Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von Trypanoplasma Lav. & Mes. in Süßwasserfischen und im Überträgeregel Piscicola geometra L.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Karl Milde
aus Gelsenkirchen

Düsseldorf 1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535714_0024

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von Trypanoplasma Lav. & Mes. in Süßwasserfischen und im Überträgeregel Piscicola geometra L.

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Karl Milde
aus Gelsenkirchen

Düsseldorf 1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Mehlhorn

2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Peters

Tag der mündlichen Prüfung: 29.10.1982

Inhaltsverzeichnis

1.	**Einleitung**	1
2.	**Material und Methoden**	4
2.1.	Haltung der Fische	4
2.2.	Kriterien für die Reinheit der Fische	5
2.3.	Fang, Haltung und Zucht der Fischegel	6
2.4.	Reinheit der Fischegel	7
2.5.	Experimentelle Infektionen	8
2.5.1.	- Infektionen von Egeln	8
2.5.2.	- Infektionen von Fischen mit Piscicolen als Überträger	8
2.5.3.	- Infektionen von Fischen mit Darminhalt der Egel	9
2.5.4.	- Übertragungen von Fisch zu Fisch	9
2.5.5.	- Karpfenläuse als Überträger von Trypanoplasmen	10
2.6.	Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen	10
3.	**Ergebnisse**	13
3.1.	Ausgangsmaterial	13
3.2.	Beobachtungen bei der Zucht der Fischegel	17
3.3.	Entwicklung von Trypanoplasma im Fischegel	19
3.3.1.	- Entwicklung von aufgenommenen Blutformen im Egeldarm	20
3.3.2.	- Entwicklung von bei der Blutmahlzeit im Egeldarm verbleibenden Trypanoplasmen	21
3.4.	Experimentelle Infektionen von Karpfen	22
3.4.1.	- Infektionen mit Fischegeln als Überträger für Trypanoplasma sp.	23

3.4.2.	- Übertragung von Trypanoplasma sp. durch inokulierten Darminhalt	25
3.4.3.	- Entwicklung von Trypanoplasma sp. im Karpfen	26
3.5.	Experimentelle Infektionen von anderen Fischen	28
3.6.	Übertragungsversuche mit Karpfenläusen	29
3.7.	Pathogenität	29
3.8.	Elektronenmikroskopische Untersuchungen	31
3.8.1.	- Organellenbestand der Parasiten	31
3.8.2.	- Cytoskelett	33
3.8.3.	- Feinbau der Geißeln	34
3.8.4.	- Cytopharyngealer Komplex	36
3.8.5.	- Aufbau des Mitochondriums	37
3.8.6.	- Zellteilung	39
3.8.7.	- Golgi-Apparat und andere auffällige Organellen	40
3.8.8.	- Surface Coat	43
3.8.9.	- Anheftung an die Darmwand	45
4.	**Diskussion**	**47**
4.1	Der Lebenszyklus von Trypanoplasma sp.	47
4.1.1.	- Die Übertragung von Trypanoplasma sp.	47
4.1.2.	- Entwicklung von Trypanoplasma sp. im Fischblut	54
4.1.3.	- Entwicklung von Trypanoplasma sp. im Fischegel	57
4.1.4.	- Pathogenität	59
4.1.5.	- Artzuordnung von Trypanoplasma sp.	61
4.2.	Mikromorphologische Besonderheiten und Abgrenzungen zu anderen Arten der Kinetoplastida	62
4.2.1.	- Cytoskelett	63
4.2.2.	- Geißeln	65
4.2.3.	- Cytopharyngealer Komplex	67
4.2.4.	- Zellteilung	70
4.2.5.	- Kinetoplast	72

4.2.6. - Surface Coat 73
4.2.7. - Anheftung der Egelstadien an die Darmwand
4.2.8. - Ausblick 77

5. Zusammenfassung 79

6. Literaturverzeichnis 83

7. Bildteil 109
7.1. Verzeichnis der Abkürzungen 109
7.2. Abbildungen

1. Einleitung

In neuerer Zeit dienen Fische in zunehmendem Maße als unentbehrliche Quelle der menschlichen Ernährung. Da sie von einer Vielzahl von Ekto- und Endoparasiten befallen werden können, kommt dem Wissen um Bekämpfungsmaßnahmen der verschiedenen Fischkrankheiten besondere Bedeutung zu. Den Gesundheitszustand der wirtschaftlich nutzbaren Fische zu heben und damit die Fischproduktion zu steigern, ist gerade im Hinblick auf Warmwasserhälterung und -züchtung wichtig. Voraussetzung für eine sinnvolle Bekämpfung parasitärer Erkrankungen ist jedoch die Kenntnis des Lebenszyklus der Krankheitserreger.

Eine häufige Erkrankung der Süßwasserfische, die bei Massenkultur besonders im Frühjahr bzw. nach dem Ablaichen der Fische zu hohen Ausfällen in der Fischpopulation führt, wird durch Hämoflagellaten hervorgerufen (Lit. cf. Wales, Wolf, 1955; Bauer, 1970; Becker, 1977; Lom, 1979). Es treten eingeißelige Formen, die als Trypanosomen bezeichnet werden, und zweigeißelige Formen im Fischblut auf. Letztere wurden zuerst von Valentin (1841) im Blut der Bachforelle (Salmo trutta f. fario) beobachtet. Laveran und Mesnil (1901) identifizierten derartige Parasiten bei der Rotfeder (Scardinius erythrophthalmus) und Elritze (Phoxinus phoxinus) als Zooflagellaten und beschrieben sie als Trypanoplasma borelli. Entsprechende Formen beim Karpfen (Cyprinus carpio) wurden zuerst von Plehn (1903) als Trypanoplasma cyprini bezeichnet.

Zwar vermutete Keysselitz (1906) einen Wirtswechsel zwischen Fisch und dem Fischegel Piscicola geometra, experimentelle intraperitoneale Inokulationen von Darminhalt der Egel in einen Fisch blieben jedoch negativ, so daß der einwandfreie Nachweis der Übertragung von Trypanoplasma durch Piscicola geometra nicht geführt werden konnte.

Léger (1904 a, b) und Brumpt (1904 - 1906) wiesen neben Trypanosomen auch Trypanoplasmen im Blut verschiedener Fische und im Verdauungstrakt von Hemiclepsis marginata und Piscicola geometra nach. Sie fordern eine strenge Wirtsspezifität beider Parasitengattungen sowohl in bezug auf den Fischwirt als auch auf den Egelvektor.

Robertson konnte 1911 durch Ansetzen von mit Trypanoplasma und Trypanosoma infizierten Hemiclepsis marginata an parasitenfreie Goldfische die Parasiten auf den Wirbeltierwirt übertragen. Dabei ergab sich, daß erst eine bestimmte Zeit vergehen muß, bevor ein Egel für den Fisch infektiöse Stadien übertragen kann.

Crawley (1909) vergleicht die Blutstadien von Trypanoplasma mit anderen zweigeißeligen Flagellaten, die in den Geschlechtsorganen der Weinbergschnecken angetroffen und als Cryptobia bezeichnet werden. Er hält wegen der großen morphologischen Ähnlichkeit der Flagellaten beide Namen für synonym. Das führte in der Folge zu zahlreichen nomenklatorischen Ungenauigkeiten.

Trotz der starken Verbreitung von Trypanoplasma existiert bis heute nur eine Untersuchung, die die Feinstruktur der Blutformen aufzeigt und diese Parasiten mit freilebenden Bodoniden und anderen Cryptobien vergleicht (Brugerolle et al. 1979).

In der vorliegenden Arbeit werden die mikromorphologischen Besonderheiten der Blutstadien von Trypanoplasma* aus den Fischwirten und der Formen aus den Überträgeregeln beschrieben und die zeitliche Aufeinanderfolge dieser Stadien untersucht. Weiterhin wird durch experimentelle Infektionen geprüft, welche Formen aus dem Egel für den Fischwirt infektiös sein können.

---

*Da die Artzuordnung nicht eindeutig ist, wird im weiteren zur Kennzeichnung der hier untersuchten Stadien lediglich Trypanoplasma sp. verwendet.

2. Material und Methoden

Neben ein- und mehrere Sommer alten Spiegel- und Schuppenkarpfen (Cyprinus carpio) wurden als mögliche Wirbeltierwirte für Trypanoplasma sp. auch junge Karauschen (Carassius carassius), Schleien (Tinca tinca), Moderlieschen (Leucaspius delineatus) und Forellen (Salmo trutta) untersucht. Als mögliche wirbellose Wirte und Überträger wurden die zu den Rüsselegeln (Rhynchobdellidae) gehörenden Fischegel Piscicola geometra und Karpfenläuse (Argulus foliaceus) überprüft.

2.1. Haltung der Fische

"Einsömmerige" Karpfen wurden im September/Oktober der Jahre 1979 und 1980 aus einer Karpfenzuchtanstalt in Dülmen bezogen. Die der Anzucht dienenden Ablaich- und Vorstreckteiche wurden in Dülmen erst 14 Tage vor Besatz geflutet. Nach dem Abfischen der Jungfische wurden sie wieder trockengelegt, blieben also den größten Teil des Jahres ohne Wasser. Bei allen Teichen schwankte der pH-Wert des Wassers zwischen pH 7 und 8.

Die "mehrsömmerigen" Karpfen und Schleien (K2 bis K4 bzw. S2 bis S4) stammten aus Fischgewässern bei Velen, Siegburg, Mettmann, Hilden und Düsseldorf. Jungforellen (F1) wurden von der Landesanstalt für Fischerei NW in Albaum geliefert. Die übrigen Fische (Moderlieschen, Karauschen und einige Karpfen (K1) wurden über den örtlichen Zoohandel bezogen.

Die Fische wurden in 50- bis 150-l-Becken bei Temperaturen von 10 - 15 °C, 18 - 20 °C und 23 - 25 °C gehalten. Infektionsexperimente wurden in Kleinaquarien (2,5 l) durchgeführt. Darüber hinaus wurden einige Fische in Einhängekäfigen aus mit Plastik überzogenem Kaninchendraht (1,5 m x 1 m x 0,5 m) in einem egelfreien Innenhofteich der Universität gehältert.

Neuerworbene Fische wurden zur Vorbeugung gegen tierische Infektionen mit Faunamoor (Pahlsmeier GmbH) und anschließend gegen Bakterien- und Pilzinfektionen mit Furanace-P (Pahlsmeier GmbH) jeweils 4 Tage lang behandelt. Eine Markierung der Fische erfolgte durch Einbrennen von kleinen Zahlen in die Haut, die länger als 1 Jahr sichtbar blieben.

2.2. Kriterien für die Reinheit der Fische

Zur Aufklärung des Lebenszyklus und für Fragen der Wirtsspezifität der Trypanoplasmen sind experimentelle Infektionen an nicht-infizierten Fischen erforderlich. Da die Fische nicht selbst gezüchtet werden konnten, mußte die Parasitenfreiheit der Versuchstiere genauestens überprüft werden.

Aus diesem Grunde wurde an den Fischen eine dreimalige Herzpunktion mit anschließender Blutuntersuchung im Abstand von 10 - 20 Tagen vorgenommen. Zwischen der zweiten und dritten Herzpunktion wurden die Kaltraumtiere bei Zimmertemperatur gehalten, um eine Vermehrung möglicherweise latent vorhandener Parasiten zu erreichen. Als weitere Kontrolle wurden an-

schließend 8 - 10 nachgezogene nicht-infizierte Piscicola geometra für einen Tag angesetzt und entsprechend einer Xenodiagnose 3 - 5 Tage später auf Parasitenfreiheit untersucht. Bis zum Versuchsbeginn, vor dem noch eine vierte Blutkontrolle vorgenommen wurde, verblieben die Fische in den jeweiligen Vorratsbecken. Die Fische galten dann als nicht-infiziert, wenn sowohl in ihrem Blut als auch im Egel keine Trypanoplasmen nachweisbar waren.

2.3. Fang, Haltung und Zucht der Fischegel

Adulte und präadulte Piscicola geometra wurden von untergetauchtem Uferbewuchs (0 - 50 cm Wassertiefe) eines Anzuchtteiches für Satzfische abgesammelt. Während der kalten Jahreszeit hielten sich die Egel am Grunde auf, wo sie zwischen den Blättern vermodernden Laubs lang ausgestreckt lagen. In diesem Anzuchtteich bei Mettmann werden seit mindestens 6 Jahren, d. h. seit 1975, lediglich Karpfen und keine anderen Beifische gezogen.

Die Egel wurden in Kleinaquarien (2,5 l) in Teichwasser gehalten. Häufig erfolgte schon kurz nach dem Fang eine Kopulation der Piscicolen; die anschließende Ablage der eineiigen Kokons war dann meist innerhalb von zwei Wochen beendet. Jungegel schlüpften je nach Wassertemperatur (13 - 20 °C) 2 bis 6 Wochen später. Um zu hohe Verluste bei den Jungegeln zu vermeiden, wurden sie innerhalb von 4 Tagen nach dem Schlupf zu ihrer ersten Blutmahlzeit für einen Tag an einen parasitenfreien

Karpfen angesetzt. Der Futterfisch befand sich dazu in einem Kleinkäfig aus mit Plastik überzogenem Kaninchendraht, der in das jeweilige Egelbecken eingehängt wurde. Die beiden folgenden Fütterungen erfolgten in wöchentlichem Abstand, ehe die Zeit zwischen zwei Saugakten auf über 3 Wochen verlängert werden konnte. Nach dem 7. bis 10. Saugen begannen die jetzt 4 bis 5 Monate alten Egel zu kopulieren und legten Kokons ab. Nitritgehalt, Gesamt- und Karbonathärte wurden in den Egel- und Fischbecken kolorimetrisch mit handelsüblichen Tetra-Test-Sets (Tetra-Werke) kontrolliert.

2.4. Reinheit der Fischegel

Heute wird im allgemeinen eine transovarielle Übertragung der im Verdauungstrakt der Piscicolen lebenden Flagellaten ausgeschlossen. Da aber andererseits Keysselitz (1906) in frisch abgelegten Kokons der Egel Flagellaten beobachtet hatte, erschien es trotzdem notwendig, die Jungegel auf Parasitenfreiheit zu testen. Für jedes einzelne mit Jungegeln besetzte Kleinaquarium wurde ein Futterkarpfen ausgewählt und bei den verschiedenen Fütterungen immer wieder benutzt. Vor jeder Fütterung wurde eine Blutkontrolle des Fisches vorgenommen. Drei Tage nach einer Blutmahlzeit wurden jeweils die Egel stichprobenartig auf Flagellatenfreiheit überprüft. Nur wenn alle diese Untersuchungen negativ verliefen, wurden die Egel als parasitenfrei bezeichnet und im Versuch eingesetzt.

2.5. Experimentelle Infektionen

2.5.1. Infektionen von Egeln

Für experimentelle Infektionen wurden die Nachwuchsegel der ersten und zweiten Folgegeneration benutzt. Diese parasitenfreien adulten und präadulten Piscicolen wurden für 1, 3, 5, 9 und 12 Stunden an einen infizierten Fisch angesetzt und direkt nach der Abnahme vom Fisch, in drei- bis sechsstündigen Intervallen während der ersten drei Tage nach der Blutmahlzeit und von diesem Zeitpunkt an in zehntägigen Intervallen untersucht.

2.5.2. Infektionen von Fischen mit Piscicolen als Überträger

Experimentell infizierte Egel wurden am 3., 5., 10., 15., 23., 41. und 60. Tag p.i. an nicht-infizierte Karpfen, Karauschen und Moderlieschen angesetzt und dort verschieden lang (bis maximal 175 Stunden) belassen. Nachdem die Egel wieder entfernt worden waren, wurden in zehn- bis zwanzigtägigen Zeitintervallen bei den Fischen Herzpunktionen oder Blutabnahmen aus einem Kiemenbogen vorgenommen und auf Flagellaten untersucht.

2.5.3. Infektionen von Fischen mit Darminhalt der Egel

Experimentell infizierte Egel wurden am 10., 23. und 41. Tag p.i. für 1, 2, 3, 5, 7 und 9 Stunden an nicht-infizierten Karpfen belassen. Direkt danach und zusätzlich 18, 25, 35, 49, 60, 100, 157 und 176 Stunden seit Beginn der Blutmahlzeit wurden die Egel in Clitellarhöhe mit einem Zwirnsfaden abgeschnürt. Vorder- und Hinterende wurden getrennt aufpräpariert und der jeweilige Inhalt des Verdauungstraktes in 100 bis 200 µl Tyrode-Lösung (pH 7,0 bis 7,3) oder Minimum Essential Medium Eagle (Flow Laboratories) aufgenommen. Entsprechend wurde mit Egeln verfahren, die nach ihrer experimentellen Infektion an den o. a. Tagen (ohne erneut zu saugen) präpariert wurden. Nach Auszählen der Parasitenkonzentration mit einer Zählkammer nach Neubauer (Tiefe 0,1 mm, Fläche 0,0025 mm^2) wurde die Flagellatensuspension des Vorder- und Hinterdarmes getrennt in verschiedene nichtinfizierte Jungkarpfen intraperitoneal injiziert. Das Herzblut dieser Fische wurde anschließend im Abstand von 10 - 20 Tagen auf Trypanoplasmen untersucht.

2.5.4. Übertragungen von Fisch zu Fisch

Das von "mehrsömmerigen" Karpfen (K3 und K4) aus Mettmann durch Herzpunktion gewonnene und in EDTA-Blutröhrchen aufgefangene Blut wurde intraperitoneal verschiedenen Jungkarpfen, Moderlieschen, Karauschen, Schleien und Forellen injiziert.

Von adulten Karpfen konnten 2 - 3 ml Blut gewonnen werden, ohne daß eine Schädigung der Fische auftrat. Mit 10 - 80 µl inokuliertem Karpfenblut gelangten zwischen 5 und etwa 100 Blutformen von Trypanoplasma sp. in den neuen Wirt. Die experimentell infizierten Fische wurden im Abstand von ca. 10 Tagen auf Flagellaten hin überprüft.

Die Infektionsexperimente sind in Abb. 1 graphisch dargestellt.

2.5.5. Karpfenläuse als Überträger von Trypanoplasmen

Der Darminhalt von Karpfenläusen wurde lichtmikroskopisch auf Trypanoplasmen hin getestet. Außerdem wurden 8 Krebse direkt nach ihrer Abnahme von infizierten Fischen an nicht-parasitierte Karpfen angesetzt.

2.6. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen

Neben durch Herzpunktion gewonnenen Blutproben wurden bei den Fischen Gewebsproben von Leber, Niere und Skelettmuskulatur getestet. Bei den Egeln und Karpfenläusen wurden Darmgewebe und Darminhalt überprüft. Die für lichtmikroskopische Untersuchungen angefertigten Ausstriche wurden entsprechend Romeis (1968) mit Giemsa-Lösung gefärbt und mit Gurr's Neutral Mounting Medium eingebettet.

Die Blut- und Gewebsproben der Fische bzw. Darm- und Darminhaltsproben der Egel wurden für die Aufarbeitung im Transmissions-Elektronenmikroskop mit 5%igem Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,3) bei +4 °C für mindestens 12 Stunden fixiert. Nach Nachfixierung mit 1%igem OsO_4 in 0,1 M Cacodylatpuffer wurden die Proben über die Alkoholreihe und Propylenoxid entwässert und anschließend in Araldit eingebettet. Auf der Stufe des 70%igen Äthanols wurde dabei eine zweistündige Blockkontrastierung mit 1 % Uranylacetat und 1 % Phosphorwolframsäure eingeschaltet.

Semidünnschnitte (Schnittdicke 0,5 µm bis 1 µm) und Ultradünnschnitte wurden mit einem Reichert OM U 3 Ultramikrotom angefertigt. Die Färbung der Semidünnschnitte geschah mit einer wäßrigen Methylenblau/AzurII-Mischung in 1%igem Borax. Die Ultradünnschnitte wurden mit methanolischer Uranylacetatlösung und mit Bleicitrat nach Reynolds (1963) nachkontrastiert.

Für eine Gesamtdarstellung der Trypanoplasmen im Transmissionselektronenmikroskop wurde die bei D'Haese et al. (1977) beschriebene Negative-Staining-Technik wie folgt abgewandelt: Ein Tropfen einer aus dem Egeldarm gewonnenen und mit Tyrode-Lösung (pH 7,0) aufgenommenen Parasitensuspension wurde auf mit Formvar befilmten und teilweise mit Kohle bedampften Kupfernetzchen 10 - 20 Minuten lang belassen, damit die Parasiten absinken konnten, und dann der Tropfen abgesaugt. Um die Möglichkeit zur Auswaschung der Zellbestandteile zu erhalten, wurden die Netzchen mit 2- bis 5%igem Triton X-100 in 0,03 M KCl-Tris-Maleat-Puffer (pH 7,0) überschichtet und

3 Minuten inkubiert. Nach mehrmaligem Waschen in Puffer wurde mit 1 % Phosphorwolframsäure mit Zusatz von 0,01 % Ovalbumin und 0,4 % Saccharose kontrastiert und anschließend erneut mit Puffer gewaschen.

Zum Nachweis eines eventuell bei den Parasiten vorhandenen "surface coat" wurde die Thiery-Methode (1967) zur Darstellung von Glycoproteinen angewandt. Dazu erfolgte lediglich eine Fixierung der Proben mit 5 % Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,3) ohne spätere Nachkontrastierung mit Osmium oder Uranylacetat, ehe wie oben beschrieben eingebettet wurde. Die Nachweisreaktion wurde an auf Goldnetzen aufgefangenen Ultradünnschnitten entsprechend der bei Mehlhorn et al. (1979) beschriebenen Methode modifiziert.

Zur Herstellung von rasterelektronenmikroskopischen Präparaten wurden ganze Egel mit 2,5%igem Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,3) und anschließend mit 2%igem OsO_4 fixiert. Die Proben wurden über eine Acetonreihe entwässert, bevor sie critical point getrocknet (Trocknungsanlage: Balzers Union Typ 11 120) und mit Gold bedampft wurden (Bedampfungsanlage: Balzers Union Typ 07 120-A).

Zur lichtmikroskopischen Untersuchung diente ein Zeiss UNIVERSAL-Photomikroskop und zur elektronenoptischen Auswertung ein Zeiss Elektronenmikroskop 9 S 2 bzw. ein Leitz AMR 1000-Rasterelektronenmikroskop.

3. Ergebnisse

Es konnte durch die Gesamtheit aller Experimente nachgewiesen werden, daß Trypanoplasma sp. einen zweiwirtigen Lebenszyklus besitzt. Im Fischblut lebende Flagellaten werden von Fischegeln während ihrer Blutmahlzeit aufgenommen. Im Darm der Egel vermehren sich die Parasiten und können beim erneuten Blutsaugen auf einen anderen Fisch übertragen werden. Umweltgegebenheiten und -veränderungen wirken auf den Fisch und die übertragenden Egel. So können sich auch für die in den jeweiligen Wirten lebenden Stadien Konsequenzen ergeben.

3.1. Ausgangsmaterial

Von 28 zu verschiedenen Jahreszeiten untersuchten "mehrsömmerigen" Spiegel- und Schuppenkarpfen (K2 - K4) wiesen 20 Fische chronische Infektionen mit Trypanoplasma sp. auf. Die befallenen Fische zeigten keinen deutlichen Unterschied in der Höhe der Parasitämie in Abhängigkeit vom Alter. Im Herzblut der Karpfen wurden nur Trypanoplasmen gefunden, Trypanosomen traten nie auf. Von den 8 nicht-infizierten Karpfen stammten 7 Fische aus Baggerlöchern und nur ein Tier aus einem Anzuchtteich. Sechs gleichermaßen untersuchte "mehrsömmerige" Schleien aus Hilden, Velen und Siegburg zeigten in keinem Fall eine Infektion mit Trypanoplasma sp. oder anderen Blutparasiten. Die Ergebnisse des Befalls der Freilandfische mit Trypanoplasma sp. sind in Tabelle 1 zusammenfassend dargestellt.

An den untersuchten Karpfen und Schleien wurden darüber hinaus mehrere Erkrankungen infolge von Ektoparasiten beobachtet. Die Körperoberfläche der meisten Fische war unterschiedlich stark mit Wasserschimmel (Saprolegnia sp.) besiedelt.

Alter der Fische	Herkunft	Anzahl der untersuchten Fische	Anzahl der infizierten Tiere
	K a r p f e n		
3- bis 4sömmerig	Wersten Baggersee	5	1
3sömmerig	Velen Anzuchtteich	3	3
4sömmerig	Siegburg Anzuchtteich	4	3
2- bis 3sömmerig	Mettmann Anzuchtteich	11	11
3sömmerig	Hilden Baggersee	5	2
	S c h l e i e n		
3- bis 4sömmerig	Hilden Baggersee	3	0
2- bis 3sömmerig	Velen Anzuchtteich	2	0
4sömmerig	Siegburg Anzuchtteich	1	0

Tabelle 1: Befall mit Trypanoplasma sp. bei im Freiland gefangenen Karpfen und Schleien

Einen Befall der Kiemen mit Costia necatrix (Flagellata) zeigten 8 Karpfen aus Siegburg, Velen und Wersten. Darüber hinaus war bei den Karpfen aus dem Anzuchtteich bei Siegburg die Haut mehr oder weniger stark mit Ichthyophtirius multifiliis (Ciliata) besetzt. Parasitische Krebse (Argulus foliaceus (Branchiura) und Ergasilus sieboldii (Copepoda) konnten von den Fischen aus Wersten und Velen abgesammelt werden.

Während die größte Wassertiefe der Anzuchtteiche zwischen 1,20 m und 1,50 m lag, waren die beiden untersuchten Baggerlöcher bis zu 12 m tief. Auch waren Wasseroberfläche und Länge des Uferrandes bei letzteren weit größer als bei den Anzuchtteichen. Diese besaßen dagegen eine viel höhere Dichte des Fischbestandes als die beiden Baggerlöcher, und es mußte hier stark zugefüttert werden. Sämtliche Gewässer zeigten eine dichte Ufervegetation, die teilweise bis ins Wasser hineinreichte. Insbesondere die Gewässer in Hilden, Velen und Siegburg wiesen außerdem eine reiche Wasser- und Schwimmpflanzenflora auf.

Einige Fischegel (Piscicola geometra) konnten von den untersuchten Karpfen und Schleien abgesammelt werden. Die Mehrzahl der Egel wurde jedoch an den ins Wasser hineinragenden Teilen der Ufervegetation angetroffen. Während der Sommermonate bevölkerten die Egel hauptsächlich die oberen Wasserschichten (0 - 0,50 m Wassertiefe). Hier legten sie auch ihre eineiigen Kokons an den untergetauchten Teilen der Vegetation ab. In der kalten Jahreszeit dagegen waren sie nur in tieferen Wasserschichten, d. h. am Grunde der Anzuchtteiche, anzutreffen. Sie lagen jetzt bewegungslos und lang ausgestreckt auf und zwischen

Blättern und anderem toten Material. Die typischen Winkbewegungen als Reaktion auf eine Wasserbewegung, die zur ersten Kontaktaufnahme mit einem Fischwirt dienten, wurden von den Egeln jetzt nicht mehr ausgeführt. Erst nach Umsetzen in wärmeres Wasser zeigten die Fischegel wieder erhöhte Aktivität.

Die höchste Egelbesiedelung wurde in dem Anzuchtteich bei Mettmann festgestellt. Hier konnten an einigen Uferabschnitten auf ca. 1 m Länge bis zu 35 adulte und präadulte Fischegel von den Pflanzen abgesammelt werden. Nachdem im Spätherbst 1980 dieser Anzuchtteich abgefischt worden war und von nun an nicht mehr für eine intensive Anzucht von Karpfen genutzt wurde, zeigten sich im darauffolgenden Jahr nur wenige Egel an den untergetauchten Pflanzen.

Bei sämtlichen aus diesem Gewässer stammenden Fischegeln konnte ein Befall mit Trypanoplasma sp. festgestellt werden. Die Flagellaten wurden im Darmlumen und an der Darmwand angeheftet angetroffen. Im Sommer und während der Wintermonate gefangene Fischegel waren gleichermaßen stark besiedelt. Nie wurden gleichzeitig mit Trypanoplasmen auch Flagellaten der Gattung Trypanosoma im Darm der Piscicolen beobachtet. Bei einem Teil der im Freiland beschafften Egel waren dagegen die Geschlechtswege mit Cryptobia vaginalis (Abb. 28) infiziert.

3.2. Beobachtungen bei der Zucht der Fischegel

Als Überträger für Trypanoplasma sp. diente ausschließlich Piscicola geometra (Abb. 6, 7). Da sämtliche im Freiland gefangenen Egel mit Trypanoplasma sp. befallen waren, mußten für experimentelle Infektionen die Fischegel nachgezüchtet werden, um parasitenfreie Überträger zu erhalten.

Frischgefangene Piscicola geometra konnten im Gebrauchswasser der Universität nicht gehältert werden. Sie reagierten sehr empfindlich auf den hohen Kupfer- und Chlorgehalt und starben in frischem Gebrauchswasser innerhalb von 6 Stunden. Auch nach einwöchiger starker Belüftung der Gebrauchswasserbecken überlebten die Fischegel nur wenige Tage. Eine Haltung und Zucht von Piscicola war nur in Teichwasser möglich. Hier erwiesen sich die Egel jedoch als sehr widerstandsfähig gegenüber hohen Nitritkonzentrationen im Wasser. So wurden 0,5 bis 1 mg $(NO_2)^-$/l ohne Verluste vertragen. Auch ein hoher Anstieg der Karbonat- und Gesamthärte im Aquarienwasser hatte keinen sichtbaren Einfluß auf die Zucht und Haltung der Fischegel. Karbonathärten von 12 dH° und Gesamthärten bis zu 36 dH° beeinträchtigten die Egel nicht.

Kopulationen wurden meist schon kurz nach dem Fang der Egel beobachtet; dazu legten sich die Fischegel mit ihrer Clitellarregion eng aneinander und verblieben in dieser Stellung mehrere Stunden. In dieser Zeit wurden Samenpakete ausgetauscht. Erste eineiige Kokons waren bereits einen Tag später an Pflanzen und Einrichtungsgegenständen der Zuchtbecken angeheftet.

Der Schlupftermin der Jungegel war dann stark abhängig von der jeweiligen Wassertemperatur. Bei 23 - 25 °C schlüpften die ersten Egel bereits 16 Tage nach der Kokonablage. Dieser Zeitraum verlängerte sich bei 10 - 15 °C auf 4 bis 6 Wochen. Spätestens 4 Tage nach dem Schlupf mußten die Egel zur Fütterung an einen Fisch angesetzt werden. Wurde der Zeitraum vergrößert, traten zu hohe Verluste auf. Auch die beiden nächsten Fütterungen erfolgten in der Regel im Abstand von einer Woche. Wenn auch ein Teil der im Kaltraum gezüchteten Tiere eine Hungerperiode von 2 - 3 Wochen nach der ersten Blutmahlzeit überstand, so starben bei Zimmertemperatur und bei 23 bis 25 °C die Mehrzahl der Jungegel innerhalb von zwei Wochen. Erst nach der dritten Blutmahlzeit konnte der Abstand zwischen zwei Fütterungen unbedenklich auf 3 - 4 Wochen verlängert werden. Nach 4 - 5 Monaten waren die Egel dann geschlechtsreif und legten erneut Kokons ab.

Die Verdauung des bei jeder Fütterung aufgenommenen Fischblutes dauerte einige Tage und war abhängig von der Größe der Egel, der Menge des aufgenommenen Blutes und der jeweiligen Wassertemperatur. Während der Verdauungszeit lagen die Fischegel lang ausgestreckt an Pflanzen und Einrichtungsgegenständen der Aquarien. In dieser Phase reagierten sie auch nicht auf Wasserbewegungen, die sonst bei hungernden Tieren heftige Winkbewegungen des Körpers auslösten. Diese Winkbewegungen führten zur ersten Kontaktaufnahme mit dem sich bewegenden Gegenstand. Wenn es sich hierbei um einen Fisch oder einen Gegenstand handelte, der mit Fischschleim in Berührung gekom-

men war, saugten sich die Egel zunächst mit dem vorderen Saugnapf fest. Darauf fixierten sie ihren hinteren Saugnapf direkt hinter dem vorderen, bevor sie diesen wiederum lösten und mit der mit vielen Papillen besetzten vorderen Saugscheibe (Abb. 6, 7, VS) Tastbewegungen ausführten. War eine geeignete Saugstelle gefunden, wurde der Fisch mit dem weit vorstreckbaren Rüssel (Abb. 6, R) punktiert. Nachgezogene Fischegel enthielten niemals Flagellaten im Darm, so daß eine transovarielle Übertragung von Trypanoplasma sp. auszuschließen war. Gleichzeitig konnte bestätigt werden, daß die jeweiligen Futterfische parasitenfrei waren.

3.3. Entwicklung von Trypanoplasma im Fischegel

Saugt ein mit Trypanoplasma sp. befallener Rüsselegel an einem Fisch, so gelangt ein Teil der in seinem Darm befindlichen Flagellaten durch den Rüssel in den neuen Wirt. Falls der Fisch bereits mit Trypanoplasma sp. infiziert ist, werden gleichzeitig Parasiten aus dem Wirt vom Egel aufgenommen.

Nachfolgend traten im Egeldarm unterschiedliche Flagellatenstadien auf. Diese Formen sollten einer bestimmten Entwicklungslinie zugeordnet werden, d. h., es sollte geklärt werden, welche Gestalten aus den im Verdauungstrakt verbliebenen Formen und welche aus frisch aufgenommenen Blutstadien hervorgegangen sind.

3.3.1. Entwicklung von aufgenommenen Blutformen im Egeldarm

Parasitenfreie, nachgezogene Piscicola geometra wurden an mit Trypanoplasma sp. infizierte Karpfen angesetzt. Die mit dem Karpfenblut aufgenommenen großen ca. 20 µm langen und 6 µm breiten Haemoflagellaten mit stark formveränderlichem Körper (Abb. 9, 10) entwickelten sich im Egeldarm weiter. Eine einstündige Saugzeit reichte bereits aus, um den Egel zu infizieren. Der Parasitenbefall war allerdings bei länger andauernder Blutmahlzeit größer. Die vom Egel aufgenommenen Blutformen schwammen zunächst frei im Darmlumen umher. Frühestens 9 Stunden nach Beginn der Blutmahlzeit konnten (bei Zimmertemperatur) Teilungsstadien beobachtet werden, die zu viel kleineren Folgestadien (stumpy-Formen) mit stark anfärbbarem Plasma (Abb. 11) überleiteten. Bei Temperaturen von 10 - 15 °C konnten entsprechende Formen erst nach 12 - 15 Stunden diagnostiziert werden. Derartige Flagellatenstadien, die ebenfalls frei im Darmlumen umherschwammen und keine Tendenz zur Anheftung an die Darmwand zeigten, stellten zwischen 18 und 46 Stunden p.i. den Hauptanteil der Parasiten dar. Nach 49 Stunden p.i. (Wassertemperatur ca. 12 °C) traten vermehrt schlanke Stadien (Abb. 14) auf, die nun die Tendenz zeigten, sich an die Darmwand festzuheften. Eine Bevorzugung bestimmter Darmabschnitte konnte zu diesem Zeitpunkt nicht festgestellt werden. Nach insgesamt 92 Stunden p.i. hatten schließlich sämtliche Parasiten dieses schlanke Stadium erreicht.

Zwischen dem 5. Tag p.i. (bei Zimmertemperatur und 23 - 25 °C im Warmwasserbecken) und dem 10. Tag p.i. (bei 10 - 15 °C)

setzte eine Konzentration der Flagellaten in den vorderen Darmabschnitten, etwa in Höhe der Gonaden, ein.

Die Trypanoplasmen bildeten dabei in den Aussackungen des Egeldarms regelrechte Nester, indem sie sich hier mit ihrem Vorderende am Darmepithel anhefteten (Abb. 12). An der Enddarmwand haftende Parasiten waren nicht mehr anzutreffen, wenn hier auch einige frei im Darmlumen schwimmende Flagellaten beobachtet wurden. Solche nestartig angehefteten Stadien waren bei 10 bis 15 °C noch am 70. Tag p.i. im Vorderdarm nachzuweisen. Bei den höheren Wassertemperaturen (18 - 20 °C bzw. 23 - 25 °C) überlebten die Fischegel eine derartig lange Hungerperiode nicht. Nach 41 Tagen p.i. bzw. 20 Tagen p.i. waren aber auch bei diesen Egeln Trypanoplasmen nachzuweisen.

3.3.2. Entwicklung von bei der Blutmahlzeit im Egeldarm verbleibenden Trypanoplasmen

Wurden infizierte Egel zum Saugen an nicht-infizierte Fische angesetzt, so gelangte nur ein Teil der Trypanoplasmen in den neuen Wirt, wo er u. U. eine Erkrankung hervorrief. Die im Egeldarm verbliebenen Parasiten entwickelten sich hier weiter und rekolonisierten den Darm.

Während nach ein- bis zweistündigem Saugen die Parasiten noch schlank erschienen (Abb. 13), traten nach 5- bis 7,5stündiger Saugzeit auch etwas gedrungener wirkende Formen im Darminhalt auf (Abb. 15).

Nach 9 Stunden (18 - 20 °C) bis 12 Stunden (10 - 15 °C) zeigten sich vermehrt stark abgekugelte Parasiten (Abb. 16, 17, 18, 19); gleichzeitig erschien der Darminhalt dickflüssiger. Die größte Dichte wurde dabei nach ca. einem Tag erreicht. 18 - 25 Stunden nach Beginn des Saugaktes traten typische Teilungsstadien auf (Abb. 20, 21, 22, 23, 24). Es konnten immer nur Zweiteilungen beobachtet werden, niemals Mehrfachteilungen. Nach erfolgter Teilung setzte eine Reduktion der hellen Vakuolen und eine zunehmende Anfärbbarkeit des Cytoplasmas ein.

Derartige Formen konnten zwischen 35 und 49 Stunden nach Ansetzen der Egel an einen Fisch beobachtet werden. Auch diese Formen vermehrten sich durch Zweiteilungen. Solche Teilungsstadien wurden bis 60 Stunden nach Saugbeginn im Lumen des Egeldarmes nachgewiesen (Abb. 25). Sie leiteten in der Folge zu schlanken Stadien über, die jetzt wiederum die Tendenz zur Anheftung an die Darmwand zeigten. Nach 100, 157 und 176 Stunden waren nur noch solche schlanken Stadien zu finden.

3.4. Experimentelle Infektionen von Karpfen

Wurden Fischegel mit solchen langgestreckten Formen erneut an einen Karpfen (K1) angesetzt, so lösten sich, wahrscheinlich wegen der durch das neuaufgenommene Blut bedingten Milieuveränderung im Egeldarm, die meisten Trypanoplasmen von der Darmwand ab. Ein Teil der Flagellaten gelangte dann durch den Rüssel in den neuen Wirt.

Lebendbeobachtungen zeigten, daß die Trypanoplasmen sich bei einer leichten Strömung (hervorgerufen durch Druck auf das Deckglas bei Darminhaltspräparaten) an der Unterlage festhalten und sogar dagegen anschwimmen konnten.

3.4.1. Infektionen mit Fischegeln als Überträger für Trypanoplasma sp.

Experimentelle Infektionen von Fischen mittels Egel als Überträger zeigten, daß nicht sämtliche im Egel vorkommenden Stadien für den Fischwirt infektiös waren. So mußte zwischen der für den Egel infektiösen Blutmahlzeit und erneutem Saugen erst eine je nach Temperatur unterschiedlich lange Zeit verstreichen, ehe erneut für den Fischwirt infektiöse Formen auftraten.

Von 47 Karpfen (K1), an die zwischen 3 und 5 bei 10 - 15 °C gehaltene Fischegel angesetzt wurden, konnte durch nachfolgende Herzpunktionen bei 16 Tieren eine erfolgreiche Übertragung der Trypanoplasmen durch Piscicola geometra nachgewiesen werden. Die Haemoflagellaten konnten bei diesen Karpfen erstmalig zwischen dem 5. und 40. Tag p.i. im Herzblut nachgewiesen werden und persistierten noch 100 Tage p.i. (nach dem 100. Tag p.i. wurden keine Herzpunktionen mehr bei den Karpfen vorgenommen). Die Erreger konnten nur von Egeln übertragen werden, bei denen zwischen der letzten (infektiösen) Blutmahlzeit und dem erneuten Ansetzen mindestens 23 Tage ver-

gangen waren. Auch nach 41- und 60tägiger Hungerperiode waren die Egel noch infektiös für den Fischwirt. Wurden die Fischegel allerdings bereits 3 bis 15 Tage nach ihrer eigenen Infektion erneut angesetzt, so erfolgte keine Entwicklung der Trypanoplasmen im Karpfen.

Bei Zimmertemperatur gelang eine Übertragung bei 10 von 16 Tieren und im Warmwasser in 7 von 13 Fällen. Die Flagellaten konnten auch hier teilweise bis 100 Tage p.i. beobachtet werden und waren erstmalig zwischen 5 und 60 Tagen p.i. im Fisch nachzuweisen. Während bei 18 - 20 °C die Krankheit nur in einem einzigen Fall durch 10 Tage vorher experimentell infizierte Egel übertragen wurde, gelang dies mit bei 23 - 25 °C gehaltenen Egeln am 10. Tag p.i. bei der Mehrzahl der Fische. Am 15. und 23. Tag p.i. angesetzte Egel riefen gleichermaßen eine Parasitämie bei den Karpfen hervor. Bereits 5 Tage p.i. angesetzte Piscicolen führten aber zu keiner Infektion der Fische.

Die Ergebnisse der Infektionsexperimente mit Egeln als Überträger sind in Abb. 2 zusammenfassend dargestellt. Die Übertragungsexperimente mit Piscicola geometra ließen weiterhin erkennen, daß neben einer je nach Temperatur verschieden langen Entwicklungsdauer im Egeldarm auch die jeweilige Saugzeit für eine erfolgreiche Übertragung der Parasiten wichtig ist. So trat eine Infektion bei den Karpfen nur dann auf, wenn die Fischegel für mindestens 3 Std. angesetzt wurden. Bei kürzerer Saugzeit war nie eine Infektion der Fischwirte festzustellen.

3.4.2 Übertragung von Trypanoplasma sp. durch inokulierten Darminhalt

Versuche, parasitenfreie Karpfen durch intracardiale bzw. intraperitoneale Injektionen von Darminhalt der Egel zu infizieren, zeigten ebenfalls, daß erst eine bestimmte Zeit der Blutaufnahme erfolgen mußte, ehe im Lumen des Verdauungstraktes metazyklische Formen auftraten.

Fischegel, die 10 - 41 Tage vorher infiziertes Fischblut aufgenommen hatten, wurden erneut für 0 - 9 Stunden an einen Karpfen angesetzt. Dann wurden der Vorder- und Hinterdarminhalt getrennt in jeweils einen neuen Karpfen inokuliert. Andere Egel wurden nach Beendigung des Saugaktes nicht direkt, sondern erst später präpariert und ihr Darminhalt Fischen injiziert.

Mit Darminhalt von Fischegeln, die nicht oder nur 1 - 2 Stunden gesogen hatten, konnten Karpfen nicht infiziert werden. Die Injektion von Vorder- als auch Hinterdarminhalt führte zum gleichen Ergebnis. Das galt für alle drei untersuchten Temperaturbereiche. Nur wenn ein Egel 3 - 9 Stunden an einem Fisch gesogen hatte, führte der inokulierte Darminhalt bei einem zuvor nicht-parasitierten Fisch zum Befall. Die Trypanoplasmen traten dabei erstmalig nach 13 - 58 Tagen p.i. im Herzblut der Karpfen auf. Metazyklische Trypanoplasmen fanden sich meist im Inhalt des Vorderdarms. In 4 Fällen erfolgte jedoch eine Infektion bei Karpfen durch Parasiten aus dem hinteren Abschnitt des Verdauungstraktes. Eine Inokulation

des Vorderdarminhaltes war bei 11 Karpfen erfolgreich.

Wurden die Egel nach der Abnahme vom Fisch nicht unmittelbar präpariert, sondern erst zu einem späteren Zeitpunkt, so verloren die Flagellaten ihre Infektiosität. Bereits 18 Stunden (von Beginn der Saugzeit an gerechnet) später waren keine metazyklischen Formen mehr im Darminhalt vorhanden. Ein gleiches Ergebnis lieferten auch 25, 35, 49, 60 und 100 Stunden später inokulierte Darminhaltsproben des vorderen und hinteren Abschnittes. Es wurde allerdings in einem Fall nach 176 Stunden ein Karpfen durch Darminhalt eines Egels infiziert.

3.4.3. Entwicklung von *Trypanoplasma sp.* im Karpfen

Bei erfolgreichen Infektionen konnten Trypanoplasmen nach 5 bis 58 Tagen p.i. im Herzblut nachgewiesen werden. Meist persistierten die Trypanoplasmen daraufhin länger als 100 Tage p.i. In den untersuchten Gewebsproben von Leber, Niere und Skelettmuskulatur konnten dagegen keine Flagellaten beobachtet werden.

Es zeigte sich, daß der Infektionsverlauf bei den verschiedenen untersuchten Temperaturen Abweichungen im Hinblick auf das erste Erscheinen der Parasiten im Herzblut und die hier auftretenden Formen aufwies. Generell konnten im Blut drei Formen diagnostiziert werden, die allerdings auch Übergänge zeigten. Neben schlanken, im Ausstrich meist kommaförmig ge-

bogenen Parasiten mit nur schwach anfärbbarem Plasma (Abb. 8) wurden größere, stark formveränderliche Flagellaten beobachtet. Während die Schleppgeißel der schlanken Blutformen ein sehr langes freies Geißelende (ca. 12 µm) aufwies, war das freie Geißelende der größeren Formen mit 2 - 3,5 µm Länge wesentlich kürzer. Auch konnte bei diesen Formen das Cytoplasma stärker kontrastiert werden (Abb. 9). Diese Trypanoplasmastadien leiteten zu kurzen, aber sehr breiten Parasitenformen über, deren Plasma ebenfalls stärker anfärbbar war (Abb. 10).

Bei Zimmertemperatur (18 - 20 °C) und bei Warmwasserhälterung (23 - 25 °C) konnten alle drei Formen beobachtet werden. Zu Beginn des Auftretens einer Infektion traten dabei die schlanken, kommaförmigen Blutstadien in der Regel vermehrt auf, um im weiteren Infektionsverlauf gegenüber den größeren und breiteren Formen mehr in den Hintergrund zu treten. Bei Fischen, die im Kaltraum bei 10 - 15 °C gehalten wurden, konnten keine schlanken Stadien mit langem freien Geißelende beobachtet werden, auch nicht zu Beginn einer Infektion. Im Kaltraum konnte ein Befall der Karpfen mit Trypanoplasmen meist erst nach einer längeren Präpatenzperiode als bei den wärmer gehaltenen Fischen beobachtet werden. Wurden jedoch im Kaltraum gehaltene, künstlich infizierte Karpfen, die solche breiten Trypanoplasmastadien im Blut aufwiesen, in 18 - 20 °C warmes Wasser umgesetzt, so traten 10 - 20 Tage später bei ihnen ebenfalls schlanke Formen neben den breiten auf. Umgekehrt verschwanden die schlanken Stadien aus dem Blut innerhalb von ca. 30 Tagen, wenn ein warm gehaltener Karpfen mit einer Erkrankung anschließend bei 10 - 15 °C gehältert wurde.

3.5. Experimentelle Infektionen von anderen Fischen

Zur Klärung der Frage, ob für die untersuchte Trypanoplasma-art außer Karpfen noch andere Fische als mögliche Wirbeltierwirte dienen könnten, wurden Blutübertragungen auch auf Forellen, Karauschen, Schleien und Moderlieschen vorgenommen. Dazu wurde Herzblut von infizierten "mehrsömmerigen" Karpfen aus Mettmann intraperitoneal in die o. a. Fischarten injiziert. Die nachfolgende Blutuntersuchung von 4 Forellen, 6 Karauschen, 2 Schleien und 5 Moderlieschen zeigte jedoch bei keinem der Tiere eine Infektion mit Trypanoplasma sp. Dagegen erwarben bei einer derartigen Blutübertragung 8 von 10 "einsömmerigen" Karpfen eine Infektion. Die Flagellaten waren nach 18 - 56 Tagen erstmalig im Herzblut der inokulierten Karpfen nachzuweisen und persistierten dann für den Untersuchungszeitraum von 100 Tagen. Dabei erschienen bei höheren Infektionsdosen die Trypanoplasmen in der Regel früher im Blut, als dies bei niedrigeren injizierten Flagellatenanzahlen der Fall war.

Darüber hinaus wurden je 3 - 5 experimentell infizierte Fischegel am 23. und am 41. Tag p.i. an jeweils 4 Karauschen und 2 Moderlieschen für 12 Stunden angesetzt. Auch von diesen Tieren wies nachfolgend keines eine Infektion mit Trypanoplasma sp. auf.

3.6. Übertragungsversuche mit Karpfenläusen

Da neben Fischegeln auch andere blutsaugende Ektoparasiten als Überträger der Trypanoplasmose fungieren könnten, wurden Übertragungsversuche mit Argulus foliaceus unternommen. Diese parasitisch lebenden Krebse wurden von "mehrsömmerigen" infizierten Karpfen aus Wersten und Velen abgesammelt. Drei und 5 Tage nach der Abnahme vom Fisch wurde der Darminhalt von je 5 Krebsen auf Trypanoplasma sp. untersucht. In keinem Fall konnten Flagellaten nachgewiesen werden, womit eine Manifestation von Trypanoplasma sp. im Verdauungstrakt dieser Krebse auszuschließen war. Zur Untersuchung, ob Argulus foliaceus jedoch als passiver Überträger dienen könnte, ohne daß eine Weiterentwicklung der Flagellaten im Krebsdarm stattfindet, wurden 8 Krebse unmittelbar nach Abnahme von mit Trypanoplasma sp. infizierten Fischen erneut an 2 nicht-infizierte "einsömmerige" Karpfen angesetzt und hier drei Tage lang belassen. Bei keinem der beiden Fische zeigten sich bei nachfolgenden Herzpunktionen Trypanoplasmen im Blut.

3.7. Pathogenität

"Einsömmerige" Karpfen zeigten nach Befall mit Trypanoplasma sp. hohe Ausfallquoten. Dabei ließ sich eine deutliche Temperaturabhängigkeit der Sterblichkeit bei erkrankten Tieren feststellen. Die höchsten Ausfälle erkrankter Karpfen nach experimenteller Infektion mit Trypanoplasma sp. (durch Ansetzen infizierter Egel oder intraperitonealer Inokulation

infektiösen Darminhaltes der Egel) traten bei im Warmwasser (23 - 25 °C) gehaltenen Fischen auf (Abb. 3). Von 11 erkrankten Karpfen starben im Untersuchungszeitraum von 100 Tagen 7 Tiere. Auch bei Zimmertemperatur (18 - 20 °C) lag die Mortalitätsrate mit 9 von 17 erkrankten Tieren deutlich über derjenigen der im Kaltraum bei 10 - 15 °C gehälterten Karpfen (7 von 24 Fischen) (Abb. 3). Auch der Anstieg der Mortalitätssummen war bei Warmwasserhälterung deutlich größer als bei Zimmertemperatur und im Kaltwasser (Abb. 4). Eine eindeutige Verflachung der Mortalitätskurven bei Andauern der Patenz konnte jedoch nicht festgestellt werden, sondern der Anstieg blieb für die jeweilige Versuchsgruppe nahezu konstant (Abb. 4). Bei diesen erkrankten Karpfen traten die ersten Todesfälle zwischen dem 17. Tag p.i. (Kaltwasser) und dem 26. Tag p.i. (Zimmertemperatur) auf.

In Abb. 3, 4, 5 sind die Mortalitätsraten experimentell infizierter Fische bei verschiedenen Temperaturen dargestellt. Die Sterblichkeit der Karpfen, bei denen die Infektion gelang, lag deutlich höher als die bei nicht erkrankten Fischen. So erreichte bei experimentell infizierten Karpfen, bei denen sich die Trypanoplasmen jedoch nicht im Blutbild manifestierten, die Sterblichkeit im Warmwasser 40 % (4 von 10 Fischen) im Untersuchungszeitraum von 100 Tagen (Abb. 3, 5). Nur etwa halb so hoch war sie dagegen bei 18 - 20 °C, wo von 27 Fischen 5 Tiere verstarben. Im Kaltraum lag aber auch hier die Mortalität mit 15 von 93 Tieren am niedrigsten.

3.8. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

3.8.1. Organellenbestand der Parasiten

Feinstrukturelle Besonderheiten des Zellkörpers von Trypanoplasma sp. konnten sowohl bei Fischstadien als auch bei Egelstadien beobachtet werden. Trypanoplasma sp. wies eine Reihe mikromorphologischer Merkmale auf, die eine deutliche Abgrenzung zu Trypanosomatiden ermöglichte. Die Vielzahl dieser Merkmale erlaubte darüber hinaus eine Orientierung des Zellkörpers, womit nicht nur "vorne" und "hinten", sondern auch "rechts-links" und "oben-unten" definiert werden konnte.

Die mikromorphologischen Untersuchungen zeigten, daß die meisten Trypanoplasmastadien einen langgestreckt-spindel- bis tropfenförmigen Körper besaßen. Kurz vor einer Zellteilung konnten jedoch einige Entwicklungsstadien im Egeldarm fast kugelige Gestalt annehmen.

Trypanoplasma sp. besaß am abgerundeten Vorderende eine ins Plasma eingesenkte Geißeltasche, aus der zwei Geißeln entsprangen. Von diesen wurde eine frei nach vorne gestreckt und die andere entlang der Körperoberfläche nach hinten geführt. Dieses Flagellum täuschte eine undulierende Membran vor und wies je nach Entwicklungsstadium ein unterschiedlich langes freies Geißelende auf. Ebenfalls an der Geißeltasche entsprang eine die Körperoberfläche vorwölbende Kammstruktur (Abb. 30, 31, 36, 38, 40, 43, 44, 53, 56, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 72, PK). Diese zog sich nach hinten und senkte sich

bereits im vorderen Körperdrittel ins Cytoplasma ein. Hier wurde sie vom seitlichen Plasma überwölbt (Abb. 30, 31, 40, 59) und mündete in die Öffnung des Zellmundes (Abb. 30, 31, CS), von dem aus ein schlauchförmiger Cytopharynx (Abb. 30, 36, 39, 45, 48, 51, 58, 68, C) ins Plasma hineinführte. Wird die Lage dieses cytopharyngealen Komplexes mit "unten" oder "ventral" definiert, so verlief die Schleppgeißel auf der linken Körperseite. Sie zog am Rande einer dorsalen Rinne entlang, die sich in Körperlängsrichtung bis zum hinteren Zellpol erstreckte. Diese Rinne war nicht mit Mikrotubuli unterlegt, wie es bei den Körperseiten des Parasiten der Fall war. Entlang der dorsalen Rinne führte unter der Schleppgeißel ein Kanal zum Hinterende des Flagellaten (Abb. 46, 48, 50, SE). Eine weitere Unterbrechung zeigte das periphere Cytoskelett im Bereich des präoralen Kammes.

Als lichtmikroskopisch deutlich sichtbare Organellen besaß Trypanoplasma sp. einen in der vorderen Körperhälfte liegenden Zellkern sowie einen großen Kinetoplasten (Abb. 8 - 25, N, K). Der Kinetoplast stellte dabei den DNA-haltigen Anteil des an dieser Stelle ausgebuchteten einzigen Mitochondriums dar. Er lag immer in der Nähe der Geißeltasche direkt hinter dem Ursprungsort der beiden Flagellen (Abb. 8 - 25, 41). Das Mitochondrium mit seinen discoiden bis plattenförmigen Cristae, die vereinzelt auch im Bereich der Kinetoplastentasche sichtbar waren (Abb. 26, 27, 40, 41, 42, 44, 48, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, K), bildete je nach Entwicklungsstadium unterschiedlich starke Verzweigungen aus, die häufig peripher unter der Körperoberfläche entlangzogen (Abb. 26, 40, 48, 52, 53, M).

Das endoplasmatische Retikulum war insbesondere bei den Blutformen gut entwickelt (Abb. 26, 27, ER). Den weiteren Organellenbestand des Zellkörpers bildeten ein oder mehrere Golgi-Komplexe (Abb. 36, 40, 45, 49, 52, 53, 56, 63, 64, 66, 67, G), verschiedene Einschlüsse (Abb. 26, 29, 37, 41, 48, 49, 50, 51, 53, 54, 58, 59, 63, 65, 66,68, V, L) und multivesikuläre Körper (Abb. 45, 46, 47, MU). Der Flagellatenkörper wurde sowohl bei Blut- als auch bei Egelstadien von einem "surface coat" überzogen, der allerdings bei Egelstadien weniger stark ausgeprägt vorlag.

3.8.2 Cytoskelett

Der Zellkörper von Trypanoplasma sp. war von einer zweischichtigen Pellikula begrenzt, unter der in Körperlängsrichtung in 10 nm Entfernung Mikrotubuli verliefen. Diese Mikrotubuli unterstützten nach o. a. Orientierungsdefinition unten und lateral den Zellkörper. Die dorsal gelegene breite Rinne, und der Bereich des präoralen Kammes war dagegen nicht durch Mikrotubuli verstärkt. Die Mikrotubuli besaßen einen Durchmesser von ca. 30 nm mit einer Wandstärke von 8 - 10 nm. Der Abstand der einzelnen Röhren voneinander wies mit 30 - 45 nm bei den Blutformen und 30 - 40 nm bei den Egelstadien kaum Unterschiede auf. Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Trypanosomen zeigten die subpellikulären Mikrotubuli jedoch als Besonderheit im Querschnitt zwei armartige Fortsätze (Abb. 27, 37, 38, 39, 48, 50, 51, SMT). Der äußere, näher der Körperober-

fläche liegende Arm, führte waagerecht vom Mikrotubulus weg und erstreckte sich parallel der Körperoberfläche des Parasiten. Mit 20 nm Länge war dieser Fortsatz in der Regel etwas größer als der innere von 10 - 15 nm Länge (Abb. 27, 37, 38, 39, 48, 50, 51, SMT). Weiterhin standen die einzelnen Mikrotubuli an den Enden ihrer beiden Fortsätze durch elektronendichtes Material miteinander in Verbindung.

Da der Abstand der einzelnen Mikrotubuli nahezu identisch war, der Zellkörper aber nicht überall denselben Umfang besaß und auch bei Zellteilung bzw. Übergang in ein anderes Entwicklungsstadium eine Veränderung der Körperoberfläche vorlag, mußten die subpellikulären Mikrotubuli vermehrt oder verringert werden. So fanden sich im Cytoplasma verschiedentlich zusätzliche Mikrotubuli ausgebildet, die an die vorhandenen angeschlossen (Abb. 37, großer Pfeil) oder zwischengeschaltet (Abb. 37, kleine Pfeile) waren.

Am Rande der dorsalen Rinne wurden die Mikrotubuli des Cytoskelettes unter der Schleppgeißel von einem ca. 200 nm breiten und in Körperlängsrichtung des Flagellaten verlaufenden Kanal begrenzt (Abb. 26, 40, 46, 48, 50, 53, SE).

3.8.3. Feinbau der Geißeln

Trypanoplasma sp. besaß zwei lange Geißeln, von denen eine frei und die andere als Schleppgeißel ausgebildet vorlag. Beide

Geißeln zeigten neben der typischen 9 X 2 + 2-Struktur ihres Axonems darüber hinaus einen Paraxialstrang, der über weite Bereiche der Geißellänge verfolgt werden konnte. Im elektronenmikroskopischen Bild des Paraxialstranges (Abb. 40, 45, 48, 51, 53, 60, 62, PR) war eine intrafibrilläre Gitterstruktur sichtbar. Sie beruhte auf längs und schräg in unterschiedlichen Ebenen verlaufenden,elektronendicht erscheinenden Filamenten. Die in einem Seitenabstand von 30 nm längs verlaufenden Filamente standen in einem Winkel von 60° zu den Schrägfilamenten, die 35 nm voneinander entfernt waren. Auf einer Breite von 0,23 - 0,26 µm lagerte sich der Paraxialstrang an das Tubulisystem des Axonems an. Die Geißeln zeigten einen etwa ovalen Querschnitt, dessen größere Achse ca. 0,5 µm und die kürzere etwa 0,3 µm maß. Axonem und Paraxialstrang wurden außen von der zweischichtigen Zellmembran begrenzt (Abb. 32, 50, 51, F, F_2).

Niemals lag die Schleppgeißel nur auf der paraxialen Seite dem Zellkörper an, sondern die Anheftung erfolgte immer im Bereich des Axonems oder der Breitseite (Abb. 26, 40, 48, 49, 50, 51, 53, F_2). Zur Fixierung der Schleppgeißel an der Körperoberfläche von Trypanoplasma sp. wurden dazu stellenweise desmosomenartige Strukturen zwischen der dem Zellkörper zugewandten Seite des Flagellums und dem gegenüberliegenden Bereich des Flagellatenkörpers ausgebildet (Abb. 45, Pfeile).

Die Axonemata beider Geißeln entsprangen zwei Basalapparaten in unmittelbarer Nähe des Kinetoplasten (Abb. 41). Die Flagellen selbst inserierten in einer ca. 0,6 µm breiten Geißel-

tasche am Körpervorderende (Abb. 35, 41, FT). Die beiden Paraxialstränge begannen in ca. 0,2 µm Entfernung vom Boden der Geißeltasche (Abb. 41, 62). Die Enden der Flagellen wiesen keinen Paraxialstrang auf (Abb. 49, 59). Die Geißeltasche selbst besaß seitlich eine flache Ausbuchtung, die sich ins Zellplasma hinein erstreckte (Abb. 35, PFT).

3.8.4. Cytopharyngealer Komplex

Ein hervorstechendes Merkmal der bisher untersuchten Trypanoplasmen bildete der sog. cytopharyngeale Komplex. Sowohl bei Fisch- als auch bei Egelstadien konnte diese Struktur nachgewiesen werden. Mit einer Gesamtlänge von 4 - 6 µm erstreckte sich der Komplex auf der Ventralseite der Parasiten und erreichte annähernd 1/3 der Körperlänge (Abb. 30, 31, PK, CS, C).

Ausgehend von der Geißeltasche erhob sich ein präoraler Kamm über die Flagellatenoberfläche (Abb. 36, 38, 43, 44, 53, 56, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 72, PK). Dieser Kamm wurde nach ca. 3 - 4 µm vom seitlichen Cytoplasma allmählich überwölbt und ging in einen immer mehr abflachenden Rücken über (Abb. 30, 31, 40, 59, PK, PK_a, PK_b), der zuletzt vollständig ins Plasma abtauchte.Hier begann der Cytopharynx (Durchmesser 130 - 150 nm), der als langer Schlauch ins Cytoplasma der Zelle reichte (Abb. 30, 36, C). Unter Cytopharynx und Kamm verliefen 5 - 8 parallele Mikrotubuli, die im Gegensatz zu denen des Cytoskelettes keine armartigen Fortsätze trugen

(Abb. 32, 33, 34, 39, 45, 51, 62, Pfeile); sie waren mit zusätzlichem elektronendichten Material unterlegt (Abb. 62, Pfeile). Lateral des über die Oberfläche emporgehobenen Kammes und der vom Plasma überwölbten Seiten des abtauchenden Rückens befand sich entsprechendes, aber flächig ausgebildetes elektronendichtes Material (Abb. 38, 61, Pfeile). Die cytopharyngealen Mikrotubuli nahmen ihren Anfang am Grunde der Geißeltasche und umrundeten diese (Abb. 32, 33, 34, 62, Pfeile), ehe sie in Längsrichtung des Kammes weiterliefen. Der Cytopharynx wurde dann von diesen Mikrotubuli nur auf einer Seite begleitet (Abb. 39,51, Pfeile). Der gesamte cytopharyngeale Komplex schien mit den beiden Geißeln eine Einheit zu bilden, da der Zusammenhalt zu den Flagellen auch nach Behandlung mit dem Detergenz Triton X-100 nicht verlorenging. Auch nach Auflösung der Zellmembranen standen die Mikrotubuli des präoralen Kammes am Vorderende der Parasiten noch mit den Geißeln in engem Kontakt.

3.8.5. Aufbau des Mitochondriums

Trypanoplasma sp. besaß entsprechend den Trypanosomatiden ein einziges m.o.w. stark verzweigtes Mitochondrium. Die schlauchförmigen Äste dieses Organells durchzogen den Parasitenkörper in seiner ganzen Länge und lagen insbesondere bei Fischformen in der Peripherie (Abb. 26, M). Das Mitochondrium wurde von zwei Membranen begrenzt, die einen Abstand von 20 nm aufwiesen und von denen die innere 30 - 35 nm breite plattenförmige bis discoide Cristae ins Mitochondrieninnere vorstreckte (Abb. 26, 27, 35, 40, 41, 44, 49, 58, 59, M, K).

Am Vorderende des Flagellaten erweiterte sich das Mitochondrium in unmittelbarer Nähe des Geißelursprungs zu einer großen Tasche, die den Hauptanteil der mitochondrialen DNA beinhaltete (Abb. 26, 27, 29, 40 - 44, 48, 53 - 59, 61, K). Die Kinetoplastentasche der Fischstadien stellte einen langen aufgeweiteten Sack dar, der sich bei einer Länge von 4 - 6 µm und einer Breite von 0,5 - 1 µm weit ins Cytoplasma erstreckte (Abb. 8, 9, 10, 26). Bei Egelformen dagegen bestand er aus einem kompakteren ovoiden bis kugeligen Körper, der eine Länge von 5 µm erreichen konnte (Abb. 11 - 25, 40 - 44, 56 - 59). Die Anzahl der mitochondrialen Cristae war im Bereich der Kinetoplastentasche deutlich verringert (Abb. 26, 27, 40 - 44, 48, 53 - 59, 61).

Die kinetoplastische DNA bildete ein feinverteiltes fädiges Netzwerk (Abb. 26, 27, 40 - 44, 48, 53 - 59), dessen DNA-Fibrillen bis zur mitochondrialen Innenmembran reichten. Egelstadien zeigten im Aufbau ihres Kinetoplasten eine größere Variation als die Fischformen von Trypanoplasma sp. Während bei den Fischstadien die Kinetoplasten-DNA etwa gleichmäßig verteilt vorlag (Abb. 26, 27), wies sie bei den Egelstadien oft Lockerungen oder Verdichtungen der DNA-Fibrillen auf (Abb. 41 - 44). Bei letzteren konnten auch vereinzelt Kondensationen der DNA-Fäden (Abb. 42) und die Anordnung in fädigen Rosetten (Abb. 43) beobachtet werden, nachdem der Fischegel frisches Fischblut aufgenommen hatte.

3.8.6. Zellteilung

Sog ein infizierter Egel an einem Fisch, so lösten sich die Trypanoplasmen von der Vorderdarmwand ab. Diejenigen Parasiten, die nicht in den Fischwirt gelangten, kugelten sich ab und vermehrten sich durch Zweiteilungen. Insbesondere bei diesen Stadien, die nach ca. 1 Tag nach Saugbeginn im Egeldarm auftraten, aber auch bei an der Darmwand anliegenden Formen, konnte die Zellteilung im Elektronenmikroskop verfolgt werden.

Eine Teilung erfolgte immer in Körperlängsrichtung (Abb. 22 bis 25). Sie kündigte sich durch eine Verdoppelung der Basalapparate der Geißeln an (Abb. 52, B_1 - B_4). Auch schienen nach Bildung des neuen Geißelpaares die Tochterflagellen noch mit den alten in Verbindung zu stehen (Abb. 53, Pfeile). Nach erfolgter Geißelneubildung schnürte sich dann der Kinetoplast durch. Dabei wölbte sich die zum Körperinneren gelegene Seite der mitochondrialen Doppelmembran ins Mitochondrieninnere vor und teilte die kinetoplastische DNA-Masse (Abb. 54, 55, K_a, K_b). Das feinverteilte Netzwerk der DNA-Fibrillen nahm dabei in keiner Phase der Teilung eine geordnete Struktur an.

Nach erfolgter Durchschnürung des Kinetoplasten setzte die Kernteilung mit der Ausbildung eines großen intranukleären Spindelapparates ein (Abb. 56, 57, NS). Die doppelte Kernmembran wurde dabei nicht aufgelöst, sondern blieb während des gesamten Kernteilungsvorganges bestehen und wurde lediglich

von der Spindel spitz ausgebuchtet (Abb. 56, 57). Der Spindelapparat durchzog dann den Zellkern in seiner vollen Länge. Mit ca. 3,2 µm erreichten die einzelnen Spindeltubuli eine beträchtliche Länge. Der Durchmesser des einzelnen Tubulus betrug dabei etwa 25 nm. Der Spindelapparat selbst blieb während des Zellteilungsgeschehens lange sichtbar. Auch wenn sich bereits beide Tochterkerne voneinander gelöst hatten und die die Zellteilung beendende Plasmadurchschnürung fortgeschritten war, konnten noch intranukleäre Spindelmikrotubuli beobachtet werden (Abb. 56). Dabei bildete sich auch die große, durch die Kernspindel verursachte Vorwölbung der Kernhülle nur langsam zurück (Abb. 56).

3.8.7. Golgi-Apparat und andere auffällige Organellen

In der vorderen Zellhälfte von Trypanoplasma sp. befanden sich stets ein oder mehrere Golgi-Apparate. Diese Strukturen waren sowohl bei Fisch- als auch bei Egelstadien deutlich ausgebildet (Abb. 40, 45, 46, 49, 52, 53, 56, 63, 64, 66, 67, G); sie bestanden aus membranbegrenzten schüsselförmigen und übereinander gestapelten flachen Zisternen (Abb. 40, 52, 53, 63, 67, G). Diese Zisternen erreichten Durchmesser bis zu 2,1 µm bei einer lichten Weite jeder Zisterne von 20 nm. Der gesamte Golgi-Apparat war bis zu 0,4 µm hoch. Die einzelnen Zisternen standen miteinander in Verbindung (Abb. 49, Pfeil); sie gliederten an ihren Rändern ca. 60 nm große kugelige bis ovoide membranbegrenzte Vesikel ab (Abb. 36, 52, 53, 63, 66,

67, GV), die nach ihrer Loslösung häufig zwischen Golgi-Apparat und Körperoberfläche anzutreffen waren (Abb. 63, 67, GV). Das Zisterneninnere und der Vesikelinhalt zeigten bei Fisch- und Egelstadien nach Thiery-Reaktion die Anwesenheit von Polysacchariden (Abb. 63, 64, 66, G, GV).

Polysaccharide konnten nach dieser Methode im endoplasmatischen Retikulum nicht nachgewiesen werden. Bei Fisch- und Egelstadien durchzog dieses Kanalsystem mit 30 - 50 nm breiten Schläuchen den Parasitenkörper in seiner gesamten Länge (Abb. 26, 27, 41, 44, 45, 52, ER).

In Nähe der Basalapparate der Geißeln konnte eine eigenartige, aus periodischen Streifen bestehende Struktur beobachtet werden (Abb. 52, Pfeil). Elektronendichte Bänder (170 nm lang, 40 nm breit) lagen im Abstand von 90 nm parallel zueinander und standen über senkrecht zu ihnen stehende, elektronendichte Stäbe miteinander in Verbindung. Diese periodische Fiber konnte auf einer Gesamtlänge von 1 µm verfolgt werden. Neben diesen Strukturen beinhaltete der Körper der Trypanoplasmen weitere auffallende Organellen. Zwei Typen membranbegrenzter multivesikulärer Körper ließen sich bei Fisch- und Egelstadien nachweisen (Abb. 45, 46, 47, MU). Beim ersten Typ, der einen Durchmesser von 1,4 µm erreichen konnte und dessen umhüllende Membran häufig etwas eingefaltet erschien (Abb. 45), lagen in elektronendichter Matrix kleine, 0,1 - 0,2 µm Durchmesser erreichende Vesikel eingepackt (Abb. 45, 46). Der zweite Typ mit glatterer, weniger stark gefalteter Hüllmembran

erreichte einen Durchmesser von 0,9 - 1,3 µm; er enthielt ca. 160 nm große elektronendichtere Vesikel in elektronenoptisch heller Matrix (Abb. 47).

Zwei weitere Vesikeltypen variierender Größe lagen unregelmäßig verteilt im Cytoplasma der Parasitenzelle. Neben hellen, membranumgebenen Vakuolen, die teilweise 0,1 - 0,2 µm Durchmesser erreichende Einschlüsse enthielten (Abb. 48, 49, V), konnten elektronendichte Granula ohne sichtbare Membran (Abb. 40, 48, 50, 53, L) erkannt werden. Bei Fischformen erreichten die hellen Vakuolen (Abb. 26, V) einen Durchmesser von 0,4 µm, und auch die dunkleren Grana (Abb. 26, L) blieben mit 0,2 - 0,3 µm Durchmesser recht klein. Die Anzahl der Vesikel und Granula war größer als bei Egelformen.

Hatte ein infizierter Egel frisches Fischblut aufgenommen, so konnten bei den Trypanoplasmen große helle und dunklere Einschlüsse beobachtet werden (Abb. 13, 15, 16 - 25, V, GR). Sie lagen meist in der hinteren Zellhälfte und konnten mehrere Tage lang beobachtet werden. Dann verschwanden zunächst die hellen Vakuolen, während dunkle Einschlüsse weiterhin sichtbar blieben (Abb. 13, GR). Bei Zellteilungen wurden diese Organellen gleichmäßig auf die beiden Tochterindividuen verteilt (Abb. 20 - 24). Das elektronenmikroskopische Bild zeigte bei Trypanoplasmen mit derartigen Einschlüssen ebenfalls zwei Typen an. Meist sehr große helle Vakuolen mit einem Durchmesser von bis zu 1,3 µm wurden von einer Membran außen umschlossen (Abb. 41, 47, 48, 49, 51, 54, 58, 59, V). Die Thiery-Reaktion

zeigte bei diesen Vakuolen das Vorhandensein von Polysacchariden auf der nach innen gelegenen Membranseite an (Abb. 65, 68, V). Die elektronendichten, meist ebenfalls in der hinteren Zellhälfte liegenden Einschlüsse wurden dagegen von keiner Membran umgeben (Abb. 48, 50, 53, L). Sie erreichten einen Durchmesser von 0,7 µm und konnten nicht mit der Thiery-Methode kontrastiert werden.

Bei Egelstadien fand sich außerdem ein Körper von dichtgedrängten konzentrisch gepackten Membranen an der Peripherie der Zelle und beulte sogar häufig die Flagellatenoberfläche nach außen aus (Abb. 48, Pfeil).

3.8.8. Surface Coat

Die Thiery-Reaktion als Nachweis von Polysacchariden zeigte im elektronenmikroskopischen Bild einen Silberniederschlag auf der Oberfläche von Fischformen und von sämtlichen Egelstadien. Der so nachgewiesene "surface coat" war mit 25 nm Dicke bei Fischformen (Abb. 63, 64, SC) stärker ausgeprägt als der nur 10 - 13 nm dicke der Egelstadien (Abb. 65 - 72, SC). Der Oberflächenüberzug umhüllte den gesamten Zellkörper einschließlich der Geißeln, Geißeltasche, präoralen Kammes und Zellschlundes (Abb. 63 - 72, SC). Ein positives Reaktionsprodukt fand sich außerdem im Golgi-Apparat mit seinen Vesikeln (s.o.) und als Auflagerung der Membraninnenseite verschiedener Vakuolen (Abb. 63, 65, 68, V), die vornehmlich im hinteren Zellbereich zu finden waren. Bei diesen Vakuolen, die einen Durch-

messer von 1,2 µm erreichten, lagerte der Silberniederschlag in einer Stärke von 20 - 25 nm bei Blut- (Abb. 63, V) und 13 nm bei Egelstadien (Abb. 65, 68, V) den begrenzenden Membranen auf. Die Stärke entsprach damit derjenigen des "surface coat" der Körperoberflächen.

Der "surface coat" der Fischstadien von Trypanoplasma sp. bestand aus zwei Schichten. Eine untere, nach der Thiery-Reaktion elektronendichter erscheinende Lage bedeckte mit einer Stärke von ca. 5 nm gleichmäßig die Zelloberfläche (Abb. 64, kleiner Pfeil). Darauf folgte außen fädig erscheinendes Material, das mit 20 nm Dicke den Außenabschluß des Oberflächenüberzuges bildete (Abb. 64, großer Pfeil).

Die die Fischformen charakterisierende fusselige Auflage fehlte den Egelstadien auf großen Oberflächenbereichen. Zusätzliches Material ließ sich bei den Egelformen jedoch im Bereich des präoralen Kammes (Abb. 66, Pfeil) und bei an der Egeldarmwand festgehefteten Parasiten am Vorderende in unmittelbarer Umgebung der Anheftungsstelle (Abb. 70, 71, 72, Pfeile) nachweisen. Der vorgewölbte und auch der eingesenkte Teil des präoralen Kammes bildeten dabei bis zu 70 nm lange Fäden aus, über die der Parasit im Kammbereich kleine, externe Vesikel angelagert hatte (Abb. 66, Pfeil). Diese Vesikel mit nur 100 nm Durchmesser zeigten ebenfalls eine positive Thiery-Reaktion ihrer Umhüllung.

Bei Proben, die eine Erkrankung der Wirbeltierwirte nach intraperitonealer Inokulation von Egelvorderdarminhalt hervorriefen,

konnte bei einigen wenigen Flagellaten ebenfalls zusätzliches, Thiery-positives Material auf der Zelloberfläche nachgewiesen werden (Abb. 69, Pfeil). Diese Flagellatenformen, die nach 10- bis 23tägiger Hungerperiode der Egel bei erneutem Ansetzen nach mindestens dreistündiger Saugzeit auftraten, unterschieden sich außer in der Ausbildung ihres "surface coat" in ihrem Zellaufbau nicht von den übrigen, noch an der Darmwand angehefteten Stadien.

3.8.9. Anheftung an die Darmwand

An denjenigen Stellen des Vorderdarmes, an denen sich nur wenige Trypanoplasmen befanden, wies das Darmepithel der Egel einen ununterbrochenen und gut ausgebildeten Mikrovillisaum auf (Abb. 40, 60, 61, 62). Die 140 nm breiten Mikrovilli ragten 370 nm weit ins Darmlumen hinein, besaßen in ihrem Innern in Längsrichtung verlaufende Stützelemente aus elektronendichtem Material (Abb. 60 - 62, MV) und einen schwachen Thiery-positiven Oberflächenüberzug (Abb. 70 - 72, MV).

In den Aussackungen des Vorderdarmes fanden sich die Trypanoplasmen nestweise ans Darmepitel angeheftet (Abb. 12, P). Der Mikrovillisaum der Darmepithelzellen zeigte an diesen Stellen weiträumige Unterbrechungen (Abb. 70 - 72). Auch der Thiery-positive Oberflächenüberzug der Darmzellen war hier reduziert. Die Flagellaten drängten sich mit ihrem Vorderende, weniger mit ihren Geißeln, zwischen die einzelnen Mikrovilli (Abb. 70, 71). Teilweise erschienen diese auch vom Parasitenplasma

regelrecht umflossen, wobei die Trypanoplasmaoberfläche die Kontur der einzelnen Mikrovilli annahm (Abb. 71, MV). Zwischen Darmwandzellen und Außenhülle der Parasiten bestand dabei ein Spalt von ca. 30 nm Breite (Abb. 70, 71, Pfeile). Der "surface coat" der Flagellatenoberfläche nahm fädigen Kontakt mit dem Darmepithel auf. Diese Fäden des Kammbereiches und Vorderendes (Abb. 70, 71, 72, Pfeile) waren teilweise verzweigt und erreichten eine Länge von 120 nm. Der Kontakt zum Egelvorderdarmepithel war dabei über die Fäden immer gewährleistet. Auch untereinander standen die dichtgedrängten Trypanoplasmen mit ihren Thiery-positiven Fäden miteinander in Körper-Körper-Kontakt und/oder Geißel-Körper-Kontakt (Abb. 70, 72, Pfeile oben).

4. Diskussion

4.1. Der Lebenszyklus von Trypanoplasma sp.

Die experimentellen intraperitonealen Inokulationen vom Darminhalt der Fischegel in Karpfen zeigten, daß die sich im Fischblut entwickelnden Hämoflagellaten mit Sicherheit zum Lebenszyklus der im Egeldarm auftretenden Formen gehörten. Somit ist Trypanoplasma sp. zweiwirtig. Der in dieser Arbeit diskutierte Lebenszyklus ist in Abb. 73 zusammenfassend dargestellt.

4.1.1. Die Übertragung von Trypanoplasma sp.

Extrazelluläre Blutparasiten der Fische wurden erstmals von Valentin (1841) beobachtet. Laveran und Mesnil (1901) beschrieben diese zweigeißeligen Hämoflagellaten im Blut der Rotfeder und Elritze als Trypanoplasma borelli. Schon frühzeitig wurden temporäre Ektoparasiten als Überträger dieser Formen vermutet (Léger, 1904 b; Brumpt 1906 c; Keysselitz, 1906; Robertson, 1911), der Nachweis stand aber bislang aus. Keysselitz (1906) wies im Darminhalt von Piscicola geometra und im Blut der im gleichen Gewässer lebenden Fische zweigeißelige Flagellaten nach und beobachtete den Polymorphismus dieser Stadien. Er konnte jedoch keine Erkrankung der Wirbeltiere durch experimentelle Überimpfung von Egeldarminhalt in Karpfen und Schleien herbeiführen. Selbst die deutliche Erhöhung einer vorher schwa-

chen Parasitämie bei den Fischen (insbesondere bei Schleien) nach Ansetzen von bis zu 60 infizierten Egeln darf nicht als Beweis der Übertragbarkeit von Trypanoplasma durch Piscicola geometra angesehen werden, denn auch ohne erneute Inokulation (von Fisch- oder Egelstadien) oder in Abwesenheit von Egeln kann die Parasitendichte im Blut der befallenen Fische stark schwanken (Plehn, 1903; Keysselitz, 1906; Wales, Wolf, 1955; Becker, Katz, 1965 c; Khan, 1976; Lom, 1979).

Eine einmalige Blutuntersuchung, die keinen Parasitennachweis erbrachte, reicht demnach nicht aus, um die Reinheit der Versuchsfische zu belegen (Keysselitz, 1906; Robertson, 1911). So dürfen die von Brumpt (1906 b, c) und von Léger (1904 a) durchgeführten Übertragungsexperimente von Hämoflagellaten (Trypanosomen und Trypanoplasmen) auf verschiedene Fischarten durch Ansetzen von Egeln nicht ohne Zweifel hingenommen werden, da nicht sicher ist, ob die inokulierten Fische nicht etwa vorher bereits infiziert waren. Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Arbeit Fische erst als parasitenfrei bezeichnet, wenn

1.
eine mehrmalige Kontrolle des Herzblutes ein negatives Ergebnis brachte (zwischenzeitlich wurden die Fische in wärmeres Wasser umgesetzt, um eine Vermehrung eventuell latent vorhandener Parasiten herbeizuführen) und

2.

bei nachgezogenen nicht-infizierten Piscicola geometra keine Flagellaten nachzuweisen waren, nachdem sie einige Tage zuvor an den Fischen entsprechend einer Xenodiagnose (Robertson, 1911) angesetzt worden waren. Außerdem wurden für experimentelle Infektionen bei den Karpfen nur sehr junge Fische (K1) verwendet. Bei ihnen durfte von vornherein die Wahrscheinlichkeit, mit Fischegeln in Kontakt gekommen zu sein, als gering betrachtet werden, denn die Anzucht- und Vorstreckteiche der Zuchtanstalt, von der die meisten Karpfen stammten, wurden erst kurz vor dem Besatz mit Fischen geflutet und nach dem Abfischen wieder trockengelegt. Somit boten diese Teiche, die den größten Teil des Jahres trockenlagen, eventuell eingeschleppten Fischegeln kaum Überlebens- und Vermehrungschancen.

In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, daß die hier untersuchte Trypanoplasmaart auf nicht-infizierte Karpfen von Piscicola geometra übertragen werden konnte. Die in den Versuchen benutzten Fischegel (aus der ersten und zweiten Folgegeneration) sind selbst vorher experimentell infiziert worden (vgl. Infektionsschema Abb. 1), indem sie an mit Trypanoplasma sp. infizierten Karpfen sogen und so die Blutflagellaten aufnahmen. Es konnte gezeigt werden, daß die Fischegel nach der für sie infektiösen Blutmahlzeit erst eine von der Umgebungstemperatur abhängende unterschiedlich lange Zeit hungern mußten, ehe bei erneutem Saugen die Trypanoplasmen an die Fische weitergegeben werden konnten. Jungkarpfen konnten mit Trypanoplasma sp. bei 10 - 15 °C erst nach 23 Tagen,

bei 23 - 25 °C aber bereits nach 10 Tagen infiziert werden. Eine derartige Temperaturabhängigkeit der Präpatenz beobachtete auch Burreson (1982) bei der in marinen Fischen parasitierenden Art Trypanoplasma bullocki. Er gibt an, daß bei 5 °C für den Fisch infektiöse Stadien erst nach 10 - 20 Tagen auftreten, bei 20 °C aber bereits 24 Stunden nach der Blutmahlzeit derartige Formen zu finden sind. Für die in nordamerikanischen Salmoniden parasitierende Art Trypanoplasma salmositica geben Becker und Katz (1965 b) 19 Tage an, ehe im übertragenden Egel Piscicola salmositica metazyklische Trypanoplasmastadien auftreten. Ähnliche Präpatenzzeiten wie Trypanoplasma sp. weisen auch die eingeißeligen Hämoflagellaten Trypanosoma danilewskyi (Robertson,1911) und Trypanosoma tincae (Needham,1969) auf. Die längste Entwicklungsdauer benötigt die im Kabeljau (Gardus morhua) der kalten Gewässer des Nordatlantiks parasitierende Art Trypanosoma murmanensis mit 62 Tagen bei 0 - 2 °C und 42 Tagen bei 4 - 6 °C (Khan,1976).

Um Trypanoplasma sp. an den Fischwirt weitergeben zu können, mußten die Fischegel nach der Hungerperiode mindestens 3 Stunden saugen. Erst dann fanden sich im Inhalt des Vorderdarmes metazyklische infektiöse Trypanoplasmastadien, wie experimentelle intraperitoneale Inokulationen von Egeldarminhalt in Karpfen zeigten. Diese Beobachtung wurde von anderen Autoren bisher nicht gemacht. Statt dessen wurde angenommen, metazyklische Parasitenstadien seien bereits vor erneutem Saugen der Egel vorhanden. Nach Keysselitz (1906), Robertson (1911), Lom (1979) und Burreson (1982) bilden sich derartige infektiöse

Formen, sobald die bei einer Blutmahlzeit vom Fischegel aufgenommenen Parasiten nach einer freischwimmenden Phase in den vorderen Teil des Verdauungstraktes und die Rüsseltasche der Fischegel eingewandert sind und sich dort festgeheftet haben. Experimentelle Übertragungen dieser Formen mit Hilfe einer Spritze sind jedoch von o. a. Autoren nicht durchgeführt worden oder riefen (vgl. Keysselitz, 1906) keine Erkrankung der Fische hervor. Eine Übertragung von Egelstadien einiger Trypanoplasmaarten auf Fische gelang immer nur mit Hilfe infizierter Egel. So konnten z. B. Trypanoplasma borelli, T. cataractae, T. salmositica, T. beckeri und T. bullocki auf verschiedene Süßwasser- und Meeresfische übertragen werden (Robertson, 1911; Becker, Katz, 1965; Putz, 1972 b; Lom, 1979; Burreson, 1979, 1982). Angaben über die Dauer der Saugzeiten der an die Fische angesetzten Egel wurden jedoch nicht gegeben. Somit blieb die Frage offen, ob die Egelstadien bereits vor erneuter Blutmahlzeit der Egel metazyklische Eigenschaften besitzen oder diese Eigenschaften erst während erneuter Blutingestion der Egel erwerben. Die in dieser Arbeit durchgeführten Inokulationen von Egeldarminhalt in Karpfen sprechen für die letzte Möglichkeit.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen der für die Karpfen infektiösen Proben zeigten zudem bei einigen wenigen Flagellaten eine Verdickung des "surface coat" durch zusätzliches Thiery-positives Material. Diese Stadien würden somit in bezug auf den Oberflächenüberzug einen Übergang zu den Blutformen im Fisch darstellen. Man kann davon ausgehen,

daß lediglich diese Formen metazyklische Eigenschaften besitzen und für den Fischwirt infektiös sind. Hierbei ist jedoch zu beachten, daß auch sämtliche anderen Egelstadien einen "surface coat" besitzen, der aber dünner ist. Diese Beobachtung steht im Widerspruch zu den Angaben bei Brugerolle (1978), Brugerolle et al. (1979) und Lom (1979), die die Existenz eines derartigen Oberflächenüberzuges bei den Vektorstadien verneinen und nur der Zellmembran eine positive Thiery-Reaktion zuschreiben.

Der Erwerb von zusätzlichem Thiery-positiven Material bei den für den Fisch infektiösen Stadien deutet eine Anpassung an das spätere Blutleben der Flagellaten an. Somit würden in dieser Hinsicht bei Trypanoplasma sp. ähnliche Verhältnisse vorliegen, wie sie bei den human- und haustierpathogenen Trypanosomen der Salivarier-Gruppe gefunden wurden, bei denen in der Speicheldrüse der Tsetsefliege ein aus Glykoproteinen bestehender "surface coat", der zugleich der Sitz verschiedener variabler Antigene ist, aufgebaut wird (Vickerman, 1969 a, b, 1974; Vickerman, Luckins, 1969; Steiger, 1973; Gray, Luckins, 1976; Vickerman, Tetley, 1977; Le Ray et al., 1978; Gardiner et al., 1980; Gray et al., 1981; Mehlhorn, Piekarski, 1981). Bei Trypanoplasma sp. scheint der vollständige Überzug erst während der Blutingestion der Fischegel initiiert zu werden. Eine solche Möglichkeit ist bei den blutsaugenden Überträgern obiger Trypanosomen nicht gegeben, da diese in der Regel nur kurze Zeit Blut saugen und dann den Wirt wieder verlassen. Die Blutmahlzeit der Fischegel dauert dagegen mehrere Stunden,

währenddessen der "surface coat" verdichtet werden könnte. Es wäre auch denkbar, daß bereits einige am Darmepitel festgeheftete Trypanoplasmen metazyklische Eigenschaften besitzen, sich aber erst nach einer gewissen Saugzeit vom Darmepithel lösen. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten bei festgehefteten Stadien zwar fädiges Thiery-positives Material am Vorderende des Flagellatenkörpers; dieses Material schien jedoch lediglich die Verbindung Parasit-Mikrovillisaum zu bewerkstelligen. Eine solche Interpretation würde nicht erklären, warum Darminhaltsproben mit frei beweglichen Flagellaten bei kürzerer Saugzeit als 3 Stunden keine Infektion der inokulierten Karpfen hervorriefen.

Wie bei Trypanoplasma sp. festgestellt wurde, können auch bei den eingeißeligen Trypanosomaarten der Fische blutsaugende Fischegel als Überträger dienen (Robertson, 1907, 1911; Neumann, 1909; Barrow, 1954; Khan, 1976, 1977 a, c, 1978 b, c; Becker, 1977; Daily, 1978; Lom, 1979). Andere Überträger als Fischegel scheinen für Trypanoplasma sp. nicht in Frage zu kommen; eine Übertragung der Flagellaten durch Arthropoden, z. B. Argulus foliaceus, gelang nicht. Diese Krebse wurden weder als wirbelloser Wirt für Trypanoplasma sp. noch als passiver Überträger der Parasiten festgestellt. Somit stehen die hier gemachten Beobachtungen in Einklang mit den Angaben anderer Autoren (Keysselitz, 1906; Minchin, 1909; Robertson, 1911; Lom, 1979), daß weder die Trypanoplasmen noch die Trypanosomen der Fische durch Argulus übertragen werden können. Allerdings können Blutflagellaten der Anuren (z. B. Trypanosoma

rotatorium), deren natürliche Überträger auch Fischegel sind (Doflein, Reichenow, 1929; Desser, 1976), in Ausnahmefällen auch von Arthropoden (z. B. Culiciden) auf den Wirbeltierwirt übertragen werden (Desser et al. , 1975).

4.1.2. Entwicklung von Trypanoplasma sp. im Fischblut

Nach experimentellen Infektionen konnten Trypanoplasmen nach 5 - 58 Tagen p.i. im Herzblut der Fische nachgewiesen werden, wo sie dann länger als 100 Tage p.i. persistierten. Intrazellulär lebende Gewebsstadien, wie sie von den menschenpathogenen Flagellaten Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi und verschiedenen Leishmaniaarten bekannt sind (Sanabria, 1964, 1968; Vickerman, 1976; Mehlhorn et al., 1977; Killick-Kendrick, Ward, 1981) wurden nicht gefunden. Untersuchungen anderer Autoren zeigten ebenfalls nie intrazelluläre Parasiten, wenn auch bei hohen Befallsraten bzw. moribunden Fischen verschiedentlich Trypanoplasmen und Trypanosomen in den Zellzwischenräumen beobachtet werden konnten (Becker, 1977; Lom, 1979).

Im Blut der befallenen Karpfen konnten mehrere Formen von Trypanoplasma sp. beobachtet werden. Eine Form- und Größenvariation der Blutstadien findet sich auch bei anderen Trypanoplasmaarten und den Trypanosomen der Fische (Plehn, 1903; Léger, 1904 b; Keysselitz, 1906; Minchin, 1909; Neumann, 1909; Robertson, 1911; Khan, 1976, 1977a; Lom, 1979; Burreson 1982). Die Ansicht verschiedener Autoren (Léger, 1904 a, b; Keysse-

litz, 1906; Minchin, 1909), es handele sich dabei um die geschlechtliche Differenzierung dieser Stadien, ist unbewiesen. Lom (1979) gibt an, daß der Infektionsverlauf von Trypanoplasma borelli in experimentell infizierten Goldfischen in mehreren Perioden verläuft, wobei diese Abschnitte durch unterschiedlich starke Parasitämie und unterschiedliche Flagellatenformen gekennzeichnet sind. Der Infektionsverlauf bei den hier untersuchten Trypanoplasmen verlief aber nicht in solchen Phasen. Zwar waren auch hier zu Beginn der Infektion vermehrt schlanke Fischstadien zu beobachten, die bei Andauern der Patenz von dickeren Formen abgelöst wurden; niemals trat jedoch eine hohe Parasitämie auf, selbst bei Warmwasserhälterung nicht. Die schlanken Stadien waren nie allein im Blut zu beobachten; sie wurden auch zu Beginn des Auftretens im peripheren Blut immer von einigen dicken Stadien begleitet. Der unterschiedliche Infektionsverlauf kann in den Wirtstieren und/oder in den von Goldfischen verschiedenen Trypanoplasmaarten oder -stämmen gegeben sein. Karpfen sind für europäische Trypanoplasmen natürliche Wirte des Freilandes, wobei sich ein ausgeglichenes Parasit/Wirt-Verhältnis ausgebildet haben könnte. Das trifft auf Goldfische als Zuchtformen nicht in dem Maße zu, so daß hier die Krankheit einen heftigeren Verlauf nehmen könnte. So berichtete auch Migala (1967, 1971) von Massenauftreten der Trypanoplasmen im Blut (begleitet von hohen Verlusten) bei chinesischen Graskarpfen (Ctenopharyngodon idella), während bei in demselben Teich befindlichen Karpfen die Krankheit in der Regel harmloser verlief.

Das alleinige Auftreten der dickeren Trypanoplasmatypen im Herzblut der Karpfen bei Kaltwasserhälterung deutet darauf hin, daß die im Verlauf der Infektion zu beobachtende Größen- und Formvariation nicht nur zeit-, sondern auch temperaturabhängig sein dürfte. Dafür spricht auch das Erscheinen von schlanken Formen im Herzblut nach Umsetzen der Kaltraumkarpfen in wärmeres Wasser.

Obwohl in den untersuchten Blutproben keine Teilungsstadien beobachtet werden konnten, ist doch eine Vermehrung der Trypanoplasmen im Karpfen sehr wahrscheinlich, weil auch bei geringen inokulierten Parasitenzahlen später Trypanoplasmen im Blut nachzuweisen waren. Dabei kann davon ausgegangen werden, daß die inokulierten Parasiten sich gleichmäßig im Blut verteilten. Während Khan (1976) und Khaybulyayev (1970) vermuteten, daß sich die Hämoflagellaten der Fische nur im übertragenden Egel vermehren, konnten Teilungsstadien von Needham (1969), Becker (1977), Lom (1979) und Burreson (1982) sowohl von Trypanoplasmen als auch von Trypanosomen im Fischblut bei starker Parasitämie beobachtet werden. Die Teilungsstadien traten dabei immer während der akuten Entwicklungsphase auf; in der durch dicke Blutformen gekennzeichneten chronischen Periode konnten dagegen bislang keine Vermehrungsstadien beobachtet werden (Lom 1979). Die dicken Blutformen dürften sich aber ebenfalls im Fischblut teilen können, wie das Auftreten von schlanken Blutstadien nach Umsetzen der Kaltraumtiere in wärmeres Wasser oder der Rückfall einer chronischen bzw. latent vorhandenen Infektion in eine akute

Phase (Keysselitz, 1906; Becker, Katz, 1965 c; Lom, 1979) zeigten. In dieser Arbeit konnte nicht geklärt werden, ob außer den dicken Blutformen aus dem Fisch auch die schlanken Formen zu einer Infektion der Fischegel führen können, da sie nie als alleinige Form im Fischblut zu beobachten waren. Infektionen von Egeln, die zu einem frühen Zeitpunkt der Patenz an Fischen sogen und die Parasiten erwarben, deuten aber eine solche Möglichkeit an. Needham (1969) und Khan (1977 b) geben für die in Süß- und Meerwasserfischen vorkommenden Arten der Gattung Trypanosoma an, daß sämtliche Fischformen (einschließlich der Teilungsstadien) für einen saugenden Egel infektiös sind.

4.1.3. Entwicklung von Trypanoplasma sp. im Fischegel

Ein Polymorphismus, wie er in dieser Arbeit für die Trypanoplasmastadien im Egel beschrieben worden ist, kann nicht nur bei der Gattung Trypanoplasma (Keysselitz, 1906; Robertson, 1911; Becker, 1977; Lom, 1979; Burreson, 1982), sondern auch bei Fischtrypanosomen (Brumpt, 1906 b; Quadri, 1962 b, c; Needham, 1969; Khan, 1976, 1977 b; Becker, 1977; Lom, 1979) beobachtet werden. Er zeigt sich auch bei in Kultur gehaltenen Hämoflagellaten der Fische (Preston, 1966; Smolikova et al., 1977; Lom, 1979). Dabei dürften die während des Lebenszyklus von Trypanoplasma sp. auftretenden morphologischen Veränderungen von ähnlichen physiologischen Umwandlungen begleitet werden, wie sie bei Trypanosomen der T. brucei-Gruppe und

T. cruzi (Ray, Cross, 1972; Brown et al., 1973; Steiger, 1973; Vickerman, 1974; Böhringer, Hecker, 1975; Klein, Miller, 1981) und den Flagellaten der Gattung Leishmania (Simpson, 1968 a, b) bekannt sind.

Erste Teilungsstadien von aufgenommenen Fischformen ließen sich bei Trypanoplasma sp. bereits 9 - 15 Stunden p.i. im Egel beobachten. Ähnliche Angaben macht Burreson (1982) für die in marinen Fischen parasitierende Art Trypanoplasma bullocki. Bei beiden Arten entwickelten sich über gedrungene Zwischenstadien innerhalb von ca. 90 Stunden schlanke Parasitenformen.

Die langgestreckten Formen von Trypanoplasma sp. konnten sehr lange festgeheftet am Epithel des vorderen Verdauungstraktes nachgewiesen werden; zugleich konnten die Fischegel noch 60 Tage (bei 10 - 15 °C Wassertemperatur) nach Aufnahme trypanoplasmenhaltigen Fischblutes die Parasiten an andere nicht-parasitierte Jungkarpfen weitergeben. Diese Beobachtungen stehen in Widerspruch zu Lom (1979), der bereits 15 Tage nach der infektiösen Blutmahlzeit keine Trypanoplasmen mehr im Verdauungstrakt von Piscicola geometra fand. Burreson (1982) gibt für Trypanoplasma bullocki eine 30tägige Überlebensdauer im übertragenden Egel Calliobdella vivida an. Auch die Trypanosomen der Süßwasserfische sollen in Piscicola geometra nur 45 Tage überleben können (Lom, 1979), wobei die Überlebensdauer stark von der jeweiligen Umgebungstemperatur abhängt. Ähnlich kurze Überlebenszeiten im Überträgeregel gibt Needham (1969) für Trypanosoma tincae an. Andere Autoren dagegen berichten von

wesentlich längeren Überlebenszeiträumen (2 - 9 Monate) in den verschiedenen Egeln (Brumpt 1906 b, Robertson 1911, Khan 1976, 1978 a).

4.1.4. Pathogenität

Mit Trypanoplasma sp. infizierte Piscicola geometra dürften ihr gesamtes Leben lang für Karpfen infektiös sein, weil die nach einer Blutmahlzeit im Egeldarm verbleibenden Trypanoplasmen sich teilen und den Egeldarm offenbar rekolonisieren können. Ähnlich verhalten sich verschiedene Fischtrypanosomen (Neumann, 1909; Robertson, 1911; Khan, 1978 a). Das ist insbesondere für kommerzielle Fischwirtschaft von Bedeutung, denn aufgrund der erhöhten Sterblichkeit der Fische bei Trypanoplasmenbefall muß mit erheblichen finanziellen Einbußen gerechnet werden, wenn infizierte Egel eingeschleppt werden.

Insbesondere konnte eine erhöhte Karpfensterblichkeit bei Warmwasserhälterung beobachtet werden, was auch Lom (1973 a, b, 1979) bei experimentell mit Trypanoplasma borelli infizierten Goldfischen berichtet. Mit diesen Laboruntersuchungen steht in Einklang, daß durch Trypanoplasma- und Trypanosomaarten hervorgerufene Fischerkrankungen im Freiland bei ansteigenden Wassertemperaturen im Frühjahr zunehmen (Barrow, 1954, 1955; Needham, 1969; Becker, 1977; Schäperclaus, 1979). Generell kann bei parasitären Erkrankungen der Fische (einschließlich der Bakteriosen) eine starke Temperaturabhängig-

keit mit meist heftigerem Verlauf bei erhöhter Umgebungstemperatur festgestellt werden (Barrow, 1954, 1955; Avtalion et al., 1973; Cheung et al., 1978; Hoffman, 1978). Für Trypanoplasma sp. muß jedoch bedacht werden, daß bei tiefen Wassertemperaturen die übertragenden Egel eine geringere Aktivität zeigten.

Vermutlich können neben der Temperatur auch noch andere Faktoren, wie Stress-Situationen bei Aquarienhälterung (Crowding-Effekt) oder veränderte Wassereigenschaften (erhöhte Wasserhärte, erhöhter NO_2-/NO_3-Gehalt), den Krankheitsverlauf beeinflussen, denn die Mortalität bei experimentell infizierten Karpfen lag selbst bei im Kaltraum gehaltenen Tieren höher als bei Freilandtieren. Auch im Freiland sollen ungünstige Lebensbedingungen oder außergewöhnliche Anstrengungen (Hungerzeit im Winter, Ablaichen der Weibchen, Wanderung der Lachse) den Infektionsprozeß durch Unterdrückung der natürlichen Wirtsresistenz begünstigen (Breindl, 1915; Katz, Becker, 1960; Becker, Katz, 1966; Avtalion et al., 1973; Lom, 1979).

Der Befall der Karpfen mit Trypanoplasmen ist auch abhängig von den Lebensbedingungen der Egel im betreffenden Gewässer. Jungegel müssen schon wenige Tage nach dem Schlupf an einem Fisch saugen, um nicht zu verhungern. Solche Ernährungsbedingungen finden sie vor allem in stark mit Fischen besetzten Anzuchtteichen. Es ist daher nicht verwunderlich, daß Karpfen aus weniger intensiv bewirtschafteten Baggerlöchern seltener Trypanoplasmen im Blut zeigten. Zudem weisen Bagger-

löcher nur eine schmale Randzone mit für Fischegel günstiger Vegetation auf, während bei den flachen Anzuchtteichen der gesamte Teichboden von den Egeln besiedelt werden kann.

4.1.5. Artzuordnung von Trypanoplasma sp.

Die Morphologie der untersuchten Parasiten stimmte sowohl mit der Beschreibung von Trypanoplasma borelli (Laveran, Mesnil, 1901) als auch den Angaben über Trypanoplasma cyprini (Plehn, 1903) überein. Aufgrund der starken Größen- und Formvariation der Blutstadien im Fisch dürften die vielen bislang beschriebenen "Arten" von Trypanosomen und Trypanoplasmen (Zusammenstellung vgl. Lom, 1979) mit gewisser Zurückhaltung betrachtet werden. Die enorme Variationsbreite in den Abmessungen der einzelnen "Arten" mit zahlreichen Überlappungen zeigt, daß eine auf rein morphometrischen Untersuchungen beruhende Beschreibung zur Artabgrenzung nicht ausreicht. Andere Kriterien, wie Kreuzübertragungen (Putz, 1972 a, b; Khan, 1977 a; Lom, 1979) und/oder physiologische Besonderheiten der Parasiten (Letch, 1979) müssen hinzugezogen werden.

Die in dieser Arbeit untersuchte Trypanoplasmaart konnte lediglich auf Karpfen, nicht aber auf Karauschen, Schleien, Moderlieschen oder Forellen übertragen werden. Demzufolge durfte für die hier untersuchten Parasiten nicht der Name Trypanoplasma borelli gewählt werden, da diese Art sich leicht von der Rotfeder auf Karpfen und andere Cypriniden und umgekehrt

übertragen lassen soll (Lom, 1979). Die Flagellaten wurden daher als Trypanoplasma sp. bezeichnet.

Möglicherweise deuten die erfolglosen Kreuzübertragungen eine strenge Wirtsspezifizität der Parasiten in bezug auf den Fischwirt an. Denkbar wäre allerdings auch, daß durch den langzeitigen Besatz der Anzuchtteiche bei Mettmann mit Karpfen, ohne daß andere Beifische diese Gewässer besiedelten, sich ein Stamm ausgebildet hatte, der nicht mehr die Fähigkeit besaß, andere Fischarten als Karpfen zu infizieren.

4.2. Mikromorphologische Besonderheiten und Abgrenzungen zu anderen Arten der Kinetoplastida

Trypanoplasma sp. weist eine Reihe mikromorphologischer Besonderheiten auf, die eine deutliche Abgrenzung zu Trypanosomatiden erlauben und die Parasiten in die Gruppe der Bodoniden stellen.

Die verschiedenen Oberflächenstrukturen erlauben eine Orientierung des Zellkörpers im Raum und eine Lagebestimmung der einzelnen Organellen. Mit "vorne" wurde der Ursprungsort der beiden Flagellen definiert. Damit ist auch gleichzeitig die bevorzugte Bewegungsrichtung der Flagellaten beschrieben. Bei den hier untersuchten Trypanoplasmen veränderte sich die Lage des Ursprungsortes der Geißeln während des Lebenszyklus nicht wie bei den polymorphen Trypanosomatiden, bei denen die Lage

der Geißel zur Kennzeichnung der einzelnen Stadien herangezogen wird (Hoare, Wallace, 1966). Mit "unten" oder "ventral" wurde die Lage des Cytostoms und der dazugehörigen Kammstruktur der Parasitenoberfläche bezeichnet, weil diese Strukturen bei den angehefteten Egelstadien den Darmepithelien immer zugewandt waren. Die Definition von "ventral" erfolgte also anders als bei Brugerolle (1978) bzw. Brugerolle et al. (1979) entsprechend der Lagebestimmung von Lom (1979).

4.2.1. Cytoskelett

Der Zellkörper von Trypanoplasma sp. wird von parallel zueinander in Längsrichtung verlaufenden Mikrotubuli gestützt, die aber im Gegensatz zu Trypanosomen (Lit. cf. Vickerman, Preston, 1976) der zweischichtigen Pellikula nicht überall unterliegen. Sie sparen eine breite dorsale Rinne und den Bereich unter der präoralen Kammstruktur aus. Auch andere Bodoniden der Gattungen Bodo und Cryptobia zeigen solche von Art zu Art unterschiedlich breiten Unterbrechungen des Cytoskeletts (Joyon, Lom, 1969; Brooker, 1971 c; Brooker, Ogden, 1972; Burzell, 1975; Vickerman, Preston, 1976; Vickerman, 1977 b; Brugerolle et al., 1979). Während bei Bodo saltans subpellikuläre Mikrotubuli nur am Vorderende des Flagellaten zu finden sind (Brooker, 1971 c), führen sie bei dem in Siphonophoren parasitierenden Flagellaten Trypanophis grobbeni zwar entlang des gesamten Zellkörpers bis zum Hinterende, unterstützen die Pellikula aber lediglich im Bereich der Anheftungsstelle der Schleppgeißel (Cachon et al., 1972). Die Reduk-

tion des Cytoskeletts kann dabei bis zum völligen Verlust der peripheren Stützmikrotubuli führen, z. B. bei den stark formveränderlichen Bodoniden Rhynchomonas nasuta und Rhynchomonas metabolita (Burzell, 1973; Swale,1973). Bei Trypanoplasma sp. weist jeder Mikrotubulus des Cytoskeletts zwei gegenständige armartige Fortsätze auf. Er gleicht somit in seinem Feinbau den peripheren Mikrotubuli bei verschiedenen Cryptobiaarten (Vickerman, 1977 b; Brugerolle et al., 1979; Current, 1980). Dieses mikromorphologische Merkmal unterstreicht die nahe Verwandtschaft der beiden Gattungen. Da eine derartige Mikrotubuli-Ausbildung des Cytoskeletts von Trypanosomatiden nicht bekannt ist, kann hier auf ultrastruktureller Ebene eine Abgrenzung von dieser Familie erfolgen. Außerdem stehen bei Trypanoplasma sp. die einzelnen Mikrotubuli an den beiden Armen über diffuses elektronendichtes Material miteinander in Verbindung. Bei einigen Trypanosomaarten sind die Mikrotubuli durch derartiges Material direkt miteinander verbunden (Vickerman, 1969 b, 1974; Sanabria, Aristimuno, 1970; Steiger, 1973; Sanabria 1974; Postell, McGhee, 1975, 1981; De Souza et al., 1976; Vickerman, Preston, 1976; Lom, et al., 1980). Solche Querverbindungen der einzelnen Cytoskelettelemente könnten erstens eine Verstärkung der äußeren Zellhülle bedeuten und zweitens möglicherweise mit der schnellen Formveränderung, wie sie im Nativpräparat bei den Fischstadien beobachtet werden kann, in Beziehung stehen. Dabei könnte ein Aneinanderentlanggleiten der einzelnen Röhren zur Formveränderung des Zellkörpers dienen (McIntosh, Porter, 1967). Das könnte neben der Geißeltätigkeit zur Fortbewegung beitragen.

Die Ausbildung von zusätzlichen peripheren Mikrotubuli direkt unter dem bestehenden Cytoskelett und das Abbiegen der subpellikulären Mikrotubuli ins Cytoplasma bei einigen Trypanoplasmastadien dürfte eine Vermehrung oder Verringerung dieser Röhren bedeuten. So könnte auch erklärt werden, daß der Abstand der einzelnen Mikrotubuli voneinander gleich bleibt im Gegensatz zu Crithidia fasciculata (Brooker, 1972), obwohl der Zellkörper der Parasiten nicht überall gleich dick ist und auch während des Lebenszyklus Veränderungen in Form und Größe erfährt, wie dies auch von Trypanosoma cruzi berichtet wird (Meyer, De Souza, 1976). Nach Brooker (1972) sollen zudem derartige ins Cytoplasma abgetauchte Mikrotubuli eine örtlich begrenzte Veränderung in Form und/oder Größe erlauben, so daß der Flagellat engste Räume (Millipore-Filter, Blutkapillaren) passieren kann.

4.2.2. Geißeln

Die Zweigeißeligkeit von Trypanoplasma sp. grenzt diese Gattung von den Trypanosomatiden ab und ordnet sie in die Gruppe der Bodoniden ein. Bei den hier untersuchten Trypanoplasmen war die Schleppgeißel bei sämtlichen Stadien bis fast zum Hinterende der Parasiten an der Körperoberfläche festgeheftet, wie dies auch von Trypanophis grobbeni und verschiedenen Cryptobiaarten aus den Geschlechtsorganen von Schnecken und dem Verdauungstrakt einiger Fische berichtet wird (Cachon et al., 1972; Vickerman, 1977 b; Brugerolle, 1978; Brugerolle

et al., 1979; Current, 1980). In diesem Merkmal unterscheidet sich Trypanoplasma sp. von den Arten der Gattung Bodo und von Rhynchomonas nasuta, bei denen die Schleppgeißel zwar nach hinten gestreckt wird, aber dem Flagellatenkörper nicht eng anliegt (Doflein, Reichenow, 1929; Swale, 1973; Brugerolle, 1978; Brugerolle et al., 1979). Der Feinbau jeder einzelnen Geißel mit deutlich ausgebildetem Axonem und "paraxial rod" entspricht weitgehend demjenigen vieler Trypanosomen (Fuge, 1968, 1969; Steiger, 1973; De Souza et al., 1976; Vickerman, Preston, 1976; Mehlhorn et al., 1977, 1979; De Souza, Souto-Padron, 1980). Dabei muß bei letzteren jedoch eingeschränkt werden, daß nicht sämtliche Arten oder Formen einen Paraxialstrang besitzen. Ein solcher Stützstrang fehlt z. B. bei Crithidia (Strigomonas) oncopelti und den intrazellulären amastigoten Formen von Trypanosoma cruzi (Burnasheva et al., 1968; De Souza, Souto-Padron, 1980). Im Bereich der Geißeltasche sind bei Trypanoplasma sp. die Paraxialstränge beider Geißeln einander zugewandt, wie dies von den koloniebildenden Flagellaten Cephalothamnium cyclopum und Bodo saltans bzw. Bodo caudatus berichtet wird (Brooker, 1971 c; Hitchen, 1974). Auch bei den Arten der mit Trypanoplasma nahe verwandten Gattung Cryptobia liegen die Paraxialstränge einander zugekehrt vor (Brugerolle et al., 1979), während sie bei Rhynchomonas nasuta an den entgegengesetzten Seiten beider Geißeln zu finden sind (Swale, 1973). Die Flagellen der hier untersuchten Trypanoplasmen zeigen niemals fahnenartige Mastigonemen oder haarartige Strukturen, wie dies von einigen einzelligen Algen, Cephalothamnium cyclopum, Rhynchomonas nasuta und Bodo saltans berichtet wird

(Brooker, 1965, 1971 c; Bouck, 1972; Swale, 1973; Hitchen, 1974; Santore, 1977). Solche Mastigonemen stellen ein Kennzeichen entwicklungsgeschichtlich tiefstehender Flagellaten dar. Sie sind niemals bei den "höheren" Trypanosomatiden vorhanden. Somit dürfte die rein parasitische Gattung Trypanoplasma (wie auch die Gattung Cryptobia) eine erheblich "modernere" phylogenetische Stellung in der Gruppe der Bodoniden einnehmen als die freilebenden Bodoarten.

4.2.3. Cytopharyngealer Komplex

Als ein primitives Merkmal kann das Vorhandensein eines cytopharyngealen Komplexes gewertet werden. Bei der hier untersuchten Trypanoplasmaart aus Karpfen veränderte sich dieser Komplex in seiner Feinstruktur während des Lebenszyklus der Parasiten nicht. Er gleicht mikromorphologisch der entsprechenden Struktur der Fischstadien von Trypanoplasma borelli (Brugerolle, 1978; Brugerolle et al., 1979; Lom, 1979). Eine aus periodischen elektronendichten Bändern bestehende Fiber ähnlich der von Cryptobia intestinalis und Cryptobia dahlii (Brugerolle et al., 1979) wurde zwar beobachtet, aber eine direkte Verbindung zum cytopharyngealen Komplex nicht festgestellt. Die Form der präoralen Kammstruktur von Trypanoplasma sp. gleicht weitgehend der von Cryptobia helicis, Cryptobia sp. aus der Spermatheca von Triadopsis multilineata und Cryptobia vaginalis aus der Vagina von Kieferegeln (Vickermann, 1977 b; Brugerolle et al., 1979; Current, 1980).

Bei den im Magen von Meeresfischen lebenden Cryptobia intestinalis und Cryptobia dahlii sowie bei der ektoparasitischen kiemenbewohnenden Art Cryptobia branchialis taucht dagegen der Kamm viel früher ins Plasma ein (Brugerolle et al., 1979). Die seitliche Plasmaüberwölbung direkt vor dem Cytostom bei Trypanoplasma sp. dürfte mit den kurzen Lippen, die den Zellmund von Bodo saltans verschließen (Brooker, 1971 c), zu homologisieren sein. Die zweilippige im Verhältnis zum Körper riesige Proboscisstruktur bei Rhynchomonas nasuta und Rhynchomonas metabolita (Burzell, 1973; Swale, 1973) könnte sich dann durch Auswachsen der seitlichen Kammüberwölbung entwickelt haben. Bei Trypanophis grobbeni (Cachon et al., 1972) wäre dagegen eine vollständige Reduktion des cytostomalen Komplexes erfolgt.

Der cytopharyngeale Komplex der Bodoniden steht eindeutig im Dienste der Nahrungsaufnahme. Die Stadien im Fischegel von Trypanoplasma sp. dürften festere Zellbestandteile, eventuell Mikrovillitrümmer der Darmzellen des befallenen Egels, aufnehmen können. Diese Vermutung stützt sich darauf, daß erstens am präoralen Kamm der Egelstadien häufig Vesikel mit Thiery-positivem Überzug angeheftet sind, zweitens dort, wo die Flagellaten am Egeldarm festheften, die einzelnen ebenfalls mit Thiery-positivem Überzug versehenen Mikrovilli der Darmzellen vom Parasitenvorderkörper einschließlich des präoralen Kammes umschlossen werden und drittens der Mikrovillisaum der Darmepithelien hier große Unterbrechungen aufweist, während er an Stellen, wo sich keine oder nur wenige Flagellaten befinden,

intakt erscheint. Dabei könnte bei den Egelstadien von Trypanoplasma sp. die Nahrungsaufnahme in ähnlicher Weise erfolgen, wie sie von Schubert (1966) bzw. Joyon und Lom (1966, 1969) für Ichthyobodo necator (Costia necatrix) diskutiert wird. Durch die Fähigkeit, festere Nahrungspartikel aufnehmen zu können, unterschiede sich Trypanoplasma sp. von sämtlichen Trypanosomatiden, die sich alle pinocytotisch ernähren sollen (cf. Vickerman, Preston, 1976), wie dies durch die Aufnahme exogenen Ferritins bei Trypanosoma mega, T. raiae, den Trypanosomen der Salivarier-Gruppe und Crithidia fasciculata gezeigt werden konnte (Steinert, Novikoff, 1960; Brown et al., 1965; Preston, 1969; Geigy et al., 1970; Brooker, 1971 b; Jadin, 1971). Lediglich bei den Blutstadien im Fisch wäre eine pinocytotische Ernährung denkbar, wie Brugerolle et al. (1979) von Cryptobia helicis und Trypanoplasma borelli annehmen. Der Cytopharynx-Cytostom-Komplex ist bei den "primitiven" Trypanosomatiden, z. B. Crithidia fasciculata, Blastocrithidia triatomae, Trypanosoma raiae, T. danilewskyi, T. mega und T. conorhini (Steinert, Novikoff, 1960; Brooker, Preston, 1967; Milder, Deane, 1969; Preston, 1969; Mehlhorn et al., 1979; Lom et al., 1980) zwar vorhanden, aber in anderer Form ausgebildet als bei Trypanoplasma sp. Bei den "höheren" Trypanosomen fehlt dagegen ein solcher Komplex entweder gänzlich, wie bei allen Entwicklungsstadien der Trypanosomen der Salivarier-Gruppe, den Leishmaniaarten oder den Pflanzenparasiten Phytomonas elmassiani und Phytomonas davidi (Brown et al., 1965; Vickerman, 1969 b, 1973, 1974; Paulin, McGhee, 1971; Steiger, 1973; Postell, McGhee, 1975, 1981; Vickerman, Pre-

ston, 1976) oder ist doch zumindest nur bei einigen Entwicklungsstadien vorhanden, wie dies für Trypanosoma cruzi gilt (Milder, Deane, 1969; Sanabria, Aristimuno, 1970; Sanabria, 1974; Mehlhorn et al., 1977). Während bei Trypanoplasma sp. das Cytostom weit von der Geißeltasche entfernt, fast in der Zellmitte, den Eingang zum Zellschlund bildet, öffnet es sich bei Trypanosoma cruzi, T. danilewskyi, T. raiae und Crithidia- bzw. Blastocrithidiaarten direkt in der Geißeltasche (Brooker, Preston, 1967; Milder, Deane, 1969; Preston, 1969; Sanabria, Aristimuno, 1970; Brooker, 1971 d; Sanabria 1974; Mehlhorn et al., 1977, 1979; Lom et al., 1980) oder doch zumindest in deren unmittelbarer Nähe, wie bei Trypanosoma mega (Steinert, Novikoff, 1960). Bei den o. a. Trypanosomatiden scheint die Geißeltasche der Hauptort der Nahrungsaufnahme zu sein (cf. Vickerman, Preston 1976). Daß diese Funktion bei Trypanoplasma sp. vom Zellschlund übernommen wird, wird durch die Anwesenheit von unterschiedlich großen, mit einem Thiery-positiven Membranüberzug umgebenen Vakuolen im Bereich des Zellschlundes und der hinteren Körperhälfte belegt. Diese Vakuolen dürften Nahrungsvakuolen darstellen.

4.2.4. Zellteilung

Zellteilungen, wie sie bei den Egelstadien von Trypanoplasma sp. beobachtet werden konnten, verliefen nach dem für Kinetoplastiden allgemeingültigen Schema: Nach einer Verdoppelung der Geißeln schnürt sich der Kinetoplast durch, ehe der Zell-

kern und zuletzt das Plasma geteilt werden. Die während der Zweiteilung auftretenden Veränderungen wurden bislang bei Trypanoplasmaarten noch nicht auf elektronenoptischer Ebene untersucht. Der Teilungsvorgang bei Trypanoplasma sp. unterscheidet sich insbesondere hinsichtlich der Kinetoplasten- und der Kernteilung von demjenigen bei Trypanosomen (Bianchi et al., 1969; Vickerman, Preston, 1970; Brooker, 1971 d; Sanabria, Aristimuno, 1972; De Souza, Meyer, 1974; Vickerman, 1974; Mühlpfordt, 1975 a, b; Heywood, Weinmann, 1978; Brun, 1980; Postell, McGhee, 1981). Ein derartig gut ausgebildeter intranukleärer Spindelapparat, der die Kernhülle sehr weit vorwölbt und außerdem auch noch nach erfolgter Kerndurchschnürung sichtbar ist, scheint einzigartig unter den Kinetoplastiden zu sein. Da die Spindelmikrotubuli an der vorgewölbten Spitze nicht mit Chromatin in Verbindung zu stehen scheinen, wäre zu überdenken, ob diese Mikrotubuli noch andere Aufgaben als die Verteilung des Kernmaterials während der Mitose übernehmen könnten, z. B. eine Lageveränderung der schon getrennten Tochterkerne innerhalb des Flagellatenkörpers. Trypanoplasma sp. zeigt bei der der Kernteilung vorangehenden Durchschnürung des Kinetoplasten keine elektronenoptisch sichtbare DNA-Vermehrung wie bei den menschenpathogenen Trypanosomaarten T. cruzi und T. rhodesiense bzw. den rinderpathogenen T. brucei, T. evansi, T. congolense und T. vivax (Vickerman, 1966, 1974; Brack, 1968; Brack et al., 1972; Sanabria, Aristimuno, 1972; Brun, 1980). Während bei den o. a. Trypanosomen sich zunächst die diskusförmige DNA-Masse teilt, bevor durch Invaginationen der Mitochondrienhülle zwei Tochterkinetoplasten entstehen, wird das fädige irregu-

läre Netzwerk der DNA-Fibrillen bei Trypanoplasma sp. durch eine einseitige Einschnürung direkt geteilt.

4.2.5. Kinetoplast

Während bei den meisten Trypanosomatiden das elektronenmikroskopische Bild des Kinetoplasten in Längsschnitten einen m.o.w. elektronendichten aus DNA-Fibrillen bestehenden Balken und in Querschnitten einen Ring zeigt, das trifft z. B. für Trypanosoma cruzi und die Spezies der Salivarier-Gruppe zu (Vickerman, 1966, 1969 b, 1974; Brack, 1968; Sanabria, Aristimuno 1969, 1970, 1972; Mühlpfordt, Garcia, 1973; Steiger, 1973; Sanabria, 1974; Mühlpfordt, 1975 a, b; Mehlhorn et al., 1977), liegen bei Trypanoplasma sp. die DNA-Fäden scheinbar irregulär verteilt vor. Die kugelige oder ovoide Form des Kinetoplasten bildet die Ausnahme innerhalb der Trypanosomatiden und findet sich nur noch bei Crithidia deanei, C. oncopelti und Blastocrithidia culicis (Freymuller, Camargo, 1981).

Die Gruppe der Bodoniden weist eine größere Vielfalt in der Ausbildung dieser Struktur auf. Der Kinetoplast von Trypanoplasma borelli gleicht dem hier beschriebenen. Bei den freilebenden Bodoarten, bei Dimastigella trypaniformis und Trypanophis grobbeni ist er in mehrere DNA-Nucleoide aufgeteilt (Cachon et al., 1972; Vickerman, 1978; Brugerolle et al., 1979). Bei den bisher mikromorphologisch untersuchten Cryptobiaarten liegt die mitochondriale DNA-Masse zwar auch in einem einzigen

aufgeweiteten Sack des Mitochondriums, aber die Anordnung der DNA-Fibrillen in Rosetten, Bündeln oder bäumchenartigen Strukturen unterscheidet sich von der bei Trypanoplasma sp. (Vickerman, 1977 b; Brugerolle, 1978; Brugerolle et al., 1979; Current, 1980). Es ist zu beachten, daß bei den hier untersuchten Parasiten im Verlauf des Lebenszyklus Veränderungen in der Kinetoplastenstruktur auftraten, wie sie bisher weder von Trypanoplasma borelli noch von Cryptobiaarten berichtet wurden. So konnten verschiedentlich bei Egelstadien Kondensationen der DNA-Fibrillen oder rosettige Anordnung der Fäden beobachtet werden, wenn die Fischegel frisches Blut aufgenommen hatten. Diese Strukturveränderungen könnten auf unterschiedlicher Aktivität des Kinetoplasten, z. B. kurz vor der Teilung und/oder auf Milieuveränderungen, z. B. Änderungen des pH-Wertes und der chemischen Zusammensetzung des Darminhaltes nach Blutaufnahme beruhen.

4.2.6. Surface coat

Bei der in dieser Arbeit untersuchten Trypanoplasmaart zeigte die Thiery-Reaktion als Nachweis für Polysaccharide einen "surface coat" bei sämtlichen Stadien des Lebenszyklus. Damit unterscheidet sich Trypanoplasma sp. von allen bisher untersuchten Haemoflagellaten. Zwar ist der "surface coat" bei den Blutstadien im Fischwirt fast dreimal so dick wie bei den Stadien aus dem Egeldarm, aber ein vollständiges Verschwinden des Oberflächenüberzuges nach Übertritt in den wirbellosen

Wirt wie bei den digenen Trypanosomen der Salivarier- und Stercorarier-Gruppe (Sanabria, Aristimuno, 1969, 1970; Vickerman, 1969 a, 1974; Wright, Hales, 1970; Steiger, 1973; Vickerman, Preston, 1976; Mehlhorn et al., 1977; Vickerman, Tetley, 1977; Mehlhorn, Piekarski, 1981) kommt bei Trypanoplasma sp. nicht vor. Für die Egelstadien von Trypanoplasma borelli verneint Lom (1979) einen "surface coat". Seiner Meinung nach würde sich bei diesen Flagellaten lediglich die äußere Hälfte der Zellmembran mit der Thiery-Methode kontrastieren lassen. Diese meinen Beobachtungen widersprechende Angabe konnte nicht geprüft werden, da Lom seine Aussage nicht mit elektronenoptischen Bildern belegt. Mit 25 nm Dicke stimmt der Oberflächenüberzug bei den Fischstadien von Trypanoplasma sp. mit der Stärke der entsprechenden Formen von Trypanoplasma borelli überein (Lom, Nohynkova, 1977; Lom, 1979). Er ist hier also stärker ausgebildet als der "surface coat" der Trypanosomen, der bei Blutformen 10 - 15 nm dick wird. Mit seiner lockeren Struktur ähnelt der "surface coat" im elektronenoptischen Bild dem von Trypanosoma vivax, T. lewisi, T. cruzi, T. danilewskyi und Crithidia fasciculata (Sanabria, Aristimuno, 1969, 1970; Vickerman, 1969 a, 1974; Brooker, 1976; Mehlhorn et al., 1977; Lom, Nohynkova, 1977; Lom, 1979; Lom et al., 1980; Paulin et al., 1980). Er unterscheidet sich deutlich von der kompakten Zellmembran-Auflage bei den human- und rinderpathogenen Trypanosomen der brucei-Gruppe (Vickerman, 1969 a, 1974; Steiger, 1971, 1973).

Der "surface coat" der Trypanosomen ermöglicht es dem Parasiten, die Abwehrreaktionen des Wirtes durch Veränderung des Antigenbestandes zu unterlaufen (Cross, 1975; Bridgen, Cross, 1976; Gray, Luckins, 1976; Vickerman, Preston, 1976; Fruit et al., 1978; Le Ray et al., 1978; Vickerman, 1978 a; Afchain et al., 1979; Barry et al., 1979; De Gee et al., 1979; Miller, Turner, 1981). Der Erwerb eines solchen "surface coat" auf metazyklischem Entwicklungsstadium wird heute allgemein als Anpassung an das spätere Blutleben der Parasiten gewertet.

Während die meisten Autoren den "surface coat" als eine Bildung der Parasitenzelle ansehen, besagen andere, daß er auch (zumindest bei den promastigoten Formen von Leishmaniaarten und bei Trypanosoma lewisi) auf einer Adsorption von Serumproteinen des Wirtsblutes beruhen könnte (D'Alesandro, 1966; Strauss, 1971; Dwyer et al., 1974). Da die hier untersuchte Trypanoplasmaart bei sämtlichen Stadien ein Thiery-positives Reaktionsprodukt im Golgi-Apparat und seinen Vesikeln aufwies, darf man wohl annehmen, daß der "surface coat" eine Bildung der Parasitenzelle darstellt. An dieser Stelle kann die Frage, ob zusätzlich exogene Proteine angelagert werden, nicht beantwortet werden. Vermutlich steht der "surface coat" bei den Egelstadien von Trypanoplasma sp. auch im Dienste der Nahrungsaufnahme, denn sämtliche Vektorstadien besitzen ihn; bei an der Egeldarmwand angehefteten Formen werden Thiery-positive Fäden zum Darmepithel ausgebildet, und derartige Fäden kommen auch bei frei schwimmenden Parasiten zwischen präoralem Kamm und exogenen Vesikeln vor.

4.2.7. Anheftung der Egelstadien an die Darmwand

Mit der Art der Anheftung an den Egeldarm unterscheidet sich Trypanoplasma sp. von den Trypanosomen und Cryptobiaarten. Bei diesen beiden Gattungen geschieht die Anheftung an Wirtsepithelien oder andere Oberflächen immer mit Hilfe der Geißeln, die zu diesem Zweck spezielle Strukturen ausbilden (Molyneux, 1969; Brooker, 1970, 1971 a, b; Steiger, 1973; Vickerman, 1973; Killick-Kendrick et al., 1974; Molyneux, Ashford, 1975; Evans et al., 1979; Current, 1980; Rowton et al., 1981). Während die an kutikularisierten Oberflächen angehefteten Geißeln bei Crithidia fasciculata, Trypanosoma melophagium, T. vivax, T. evotomys, T. congolense, T. lewisi, T. brucei und Leishmania mexicana amazonensis sich dazu verbreitern und mit den Oberflächen Verbindungskomplexe, d. h. Hemidesmosomen, ausbilden (Molyneux, 1969, 1975; Brooker, 1970; Steiger; 1973; Vickerman, 1973; Killick-Kendrick et al., 1974; Molyneux, Ashford, 1975; Evans et al., 1979), liegen die Geißeln der an Mikrovilli-tragenden Mitteldarmepithelien angehefteten Stadien von Leishmania mexicana amazonensis, Herpetomonas ampelophilae und Trypanosoma melophagium (Killick-Kendrick et al., 1974; Molyneux, 1975; Rowton et al., 1981) zwischen den Mikrovilli, ohne daß sich Hemidesmosomen ausbilden. Bei der in der Spermatheca von Triadopsis multilineata parasitierenden Cryptobia sp. bildet die freie Geißel Flagellopodien aus, die die einzelnen Mikrovilli umfließen (Current, 1980). Bei den Egelstadien von Trypanoplasma sp. spielen die Geißeln bei der Anheftung keine Rolle. Die Parasiten umfließen mit ihrem Vorderende

und dem präoralen Kamm die einzelnen Mikrovilli, während die Geißeln nach hinten gestreckt werden. Die Verstärkung der Anheftung durch Ausbildung von langen Thiery-positiven Fäden wurde bisher bei anderen Kinetoplastiden noch nicht beobachtet.

4.2.8. Ausblick

Trypanoplasma sp. dürfte auf sehr niedriger Stufe des Blutparasitismus stehen. Folgende Gründe sprechen dafür:

1. Trypanoplasma sp. weist auch bei den Blutformen mikromorphologische Strukturen auf, die in ihrer speziellen Ausbildung sonst nur bei freilebenden oder in Körperhöhlen lebenden Flagellaten aufgefunden werden (z. B. den cytopharyngealen Komplex).

2. Sämtliche Egelstadien besitzen einen "surface coat", der als Präadaptation an den Wirbeltieraufenthalt gedeutet werden könnte. Das Fehlen eines "surface coat" bei den Vektorstadien der "höher entwickelten" Trypanosomen wäre demnach als Verlust zu interpretieren.

3. Die Parasiten werden von Anneliden übertragen, einer phylogenetisch sehr alten Tiergruppe, wie Funde aus dem Pound Sandstein (Jungalgonkium) von Südaustralien oder den Burgeß-Schiefern des mittleren Kambriums von Britisch-Kolumbien zeigen (Walcott, 1911; Müller, 1963).

4. Nur Fische, die phylogenetisch ebenfalls sehr alt sind (vgl. Müller, 1966), kommen als Wirbeltierwirte in Frage.

Der experimentell gut zugängliche "surface coat" der Egelstadien von Trypanoplasma sp. sollte weiter untersucht werden im Hinblick auf ein vieldiskutiertes "Basisantigen". Von hier aus sind Ergebnisse zu erwarten, die sich auf die human- und haustierpathogenen Trypanosomen übertragen lassen. Somit käme man einer vorbeugenden Impfung der Wirbeltierwirte gegen die Parasiten vielleicht einen Schritt näher.

5. Zusammenfassung

Experimentelle Übertragungsversuche von Trypanoplasma sp. ergaben einen zweiwirtigen Lebenszyklus, der teilweise im Karpfenblut und teilweise im Verdauungstrakt des übertragenden Egels Piscicola geometra verlief. Es erwies sich, daß

1. nachgezogene, nicht-parasitierte Piscicola geometra eine Infektion mit Trypanoplasma sp. erwarben, wenn sie an infizierte Karpfen angesetzt wurden,

2. bei nicht-parasitierten Jungkarpfen die Flagellaten im Blut auftraten, nachdem infizierte Fischegel an diesen Fischen gesogen hatten, und

3. experimentelle intraperitoneale Inokulationen von Darminhalt der Egel in Karpfen zu einer Infektion der inokulierten Fische führten.

Die während des Saugaktes mit dem Fischblut aufgenommenen Flagellaten vermehrten sich durch Zweiteilungen, wandelten sich innerhalb von 92 Stunden p.i. zu schlanken Parasitenformen um und hefteten sich mit ihrem Vorderende im Bereich des vorderen Egeldarms in den Darmaussackungen ans Darmepithel an. Hier konnten sie noch 70 Tage p.i. nachgewiesen werden. Bevor die Parasiten vom Egel an einen Fisch weitergegeben werden konnten, mußte erst eine je nach Umgebungstemperatur unterschiedlich lange Zeit (10 - 23 Tage) verstreichen und die

Fischegel mindestens drei Stunden gesogen haben. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der für die Fische infektiösen Stadien zeigten eine Verdickung des bei sämtlichen Vektorstadien vorhandenen "surface coat". Intraperitoneale Inokulationen entsprechender Darminhaltsproben in nicht-parasitierte Jungkarpfen gaben Hinweise darauf, daß lediglich diese Parasitenformen metazyklische Stadien darstellten. Die Parasiten, die während der Blutmahlzeit der Fischegel nicht in den neuen Wirt gelangten, rekolonisierten den Egeldarm. Ein einmalig infizierter Fischegel bedeutet zeitlebens eine Infektionsgefahr für die Karpfen.

Nach experimentellen Infektionen waren Trypanoplasmen nach 5 bis 58 Tagen p.i. erstmalig im Herzblut der Karpfen nachzuweisen und persistierten länger als 100 Tage p.i. Es ergaben sich keine Hinweise auf die Existenz von Gewebsstadien von Trypanoplasma sp. in den verschiedenen Organen der Fische.

Im Fischblut traten schlanke Stadien mit langem freiem Geißelende der Schleppgeißel und vor allem bei niedrigen Temperaturen und Andauern der Patenz dickere Formen auf, deren Schleppgeißel den Flagellatenkörper nur wenig überragte. Zumindest die letzteren erwiesen sich für nachgezogene, nicht-parasitierte Fischegel als infektiös.

Da eine deutlich erhöhte Sterblichkeit bei mit Trypanoplasma sp. befallenen Fischen festgestellt werden konnte, steht eine wirtschaftliche Bedeutung dieser Parasiten außer Frage. Dabei

waren die beobachteten Mortalitätsraten stark temperaturabhängig.

In dieser Arbeit konnte Trypanoplasma sp. nur auf Karpfen, nicht aber auf Karauschen, Schleien, Moderlieschen oder Forellen übertragen werden, was möglicherweise eine strenge Wirtsspezifizität der Parasiten andeutet. Auch gelang eine Übertragung der Flagellaten nur mit Fischegeln, nicht aber mit den ebenfalls ektoparasitären Krebsen Argulus foliaceus.

Die elektronenoptische Analyse der Fisch- und Egelstadien von Trypanoplasma sp. zeigte eine Reihe mikromorphologischer Merkmale, die von den ebenfalls zu den Kinetoplastida gehörenden human- und haustierpathogenen Trypanosomen und Leishmanien nicht bekannt sind. Die Zweigeißeligkeit der Flagellaten, das Vorhandensein eines cytopharyngealen Komplexes, bestehend aus präoralem Kamm, Cytostom und Cytopharynx und das anders geartete Cytoskelett stellen Trypanoplasma sp. in die Gruppe der Bodoniden, bei denen sonst nur freilebende oder in Körperhöhlen parasitierende Arten auftreten. Die Übereinstimmung vieler ultrastruktureller Merkmale von Trypanoplasma sp. mit den verschiedenen Arten der Gattung Cryptobia deutet auf die nahe Verwandtschaft beider Flagellatengattungen, wenn auch bei Cryptobia der Lebenszyklus anders verlaufen soll.

Die in dieser Arbeit untersuchten Trypanoplasmen wiesen bei den Egelstadien eine besondere Art der Anheftung ans Darmepithel auf, die bislang weder bei Trypanosomatiden noch bei

anderen Bodoniden beobachtet werden konnte. Bei Trypanoplasma sp. erfolgte die Anheftung an Wirtsepithelien nicht mit Hilfe der Geißeln, sondern mit dem Vorderende und dem präoralen Kamm. Weil die am Egeldarm angehefteten Parasiten an der Fixierungsstelle ebenso Thiery-positive Fäden aufwiesen wie die freischwimmenden Stadien zwischen präoralem Kamm und exogen aufgelagerten Vesikeln, wurde das Vorhandensein des "surface coat" bei sämtlichen Egelstadien von Trypanoplasma sp. nicht nur im Hinblick auf eine Anpassung an das spätere Blutleben der Parasiten gedeutet, sondern seine Funktion auch in Zusammenhang mit der Nahrungsaufnahme diskutiert und in Beziehung zur offenbar tiefen phylogenetischen Stellung der Parasiten gesetzt.

6. Literaturverzeichnis

Afchain, D., Le Ray, D., Fruit, J., Capron, A. (1979):
Antigenic make-up of Trypanosoma cruzi culture forms: Identification of a specific component.
J. Parasit. 65, 507 - 514.

Avtalion, R. R., Wojdani, A., Malik, Z., Shahrabani, R., Duczyminer, M. (1973):
Influence of environmental temperature on the immune response in fish.
Topics Microbiol. Immunol. 61, 1 - 35.

Barrow jr., J. H. (1954):
Observations of some host-specifity and immunological reactions of trypanosome infections in some freshwater fish in Europe.
Anat. Rec. 120, 750 - 751.

Barrow jr., J. H. (1955):
Social behavior in fresh-water fish and its effect on resistance to trypanosomes.
Proc. N. A. S. 41, 676 - 679.

Barry, J. D., Hajduk, S. L., Vickerman, K., Le Ray, D. (1979):
Detection of multiple variable antigen types in metacyclic populations of Trypanosoma brucei.
Trans. Roy. Soc. Trop.Med. Hyg. 73, 205 - 208.

Bauer, O. N. (1970):
Parasitic diseases of cultured fishes and methods of their prevention and treatment,
in: Parasitology of fishes (Dogiel, V. A., Petrushevski, G. K., Polyanski, Y. I., eds.),
T. F. H. Publications, Inc. Ltd., Hong Kong,
pp. 265 - 299.

Becker, C. D. (1977):
Flagellate parasites of fish,
in: Parasitic Protozoa (Kreier, J. P., ed.),
Academic Press, New York 1, 357 - 416.

Becker, C. D., Katz, M. (1965 a):
Transmission of the hemoflagellate, Cryptobia salmositica Katz, 1951, by a rhynchobdellid vector.
J. Parasit. 51, 95 - 99.

Becker, C. D., Katz, M. (1965 b):
Distribution, ecology and biology of the salmonid leech, Piscicola salmositica (Rhynchobdellae: Piscicolidae).
J. Fish. Res. Board Can. 22, 1175 - 1195.

Becker, C. D., Katz, M. (1965 c):
Infections of the hemoflagellate, Cryptobia salmositica Katz, 1951, in fresh water teleosts of the Pacific Coast.
Trans. Am. Fish. Soc. 94, 327 - 333.

Becker, C. D., Katz, M. (1966)
Host relationships of Cryptobia salmositica (Protozoa: Mastigophora) in a western Washington hatchery stream.
Trans. Am. Fish. Soc. 95, 196 - 202.

Bianchi, L., Rondanelli, E. G., Carosi, G., Gerna, G. (1969):
Endonuclear spindle in the leptomonad of Leishmania tropica.
J. Parasit. 55, 1091 - 1093.

Böhringer, S., Hecker, H. (1975):
Quantitative ultrastructural investigations of the life cycle of Trypanosoma brucei: A morphometric analysis.
J. Protozool. 22, 463 - 467.

Bouck, G. B. (1972):
Architecture and assembly of mastigonemes.
Adv. Cell Mol. Biol. 2, 237 - 271.

Brack, C. (1968):
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Lebenszyklus von Trypanosoma cruzi.
Acta Trop. (Basel) 25, 289 - 356.

Brack, C., Delain, E., Riou, G. (1972):
Replication covalently-closed circular DNA from kinetoplasts of Trypanosoma cruzi.
Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 69, 1642 - 1646.

Breindl, V. (1915):
Study on the blood parasites of fresh water fishes.
Rozpravy České Akademie Cisaře Františka Josefa pro vědy, slovenost a uměni, (Praha) 18, 1 - 29.

Bridgen, P. J., Cross, G. A. M.(1976):
N-terminal amino acid sequences of variant-specific surface antigens from Trypanosoma brucei.
Nature 263, 613 - 614.

Brooker, B. E. (1965):
Mastigonemes in a bodonid flagellate.
Exp. Cell Res. 37, 300 - 305.

Brooker, B. E. (1970):
Desmosomes and hemidesmosomes in the flagellate Crithidia fasciculata.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 105, 155 - 166.

Brooker, B. E. (1971 a):
Flagellar adhesion of Crithidia fascitulata to Millipore filters.
Protoplasma 72, 19 - 25.

Brooker, B. E. (1971 b):
Flagellar attachment and detachment of Crithidia fasciculata to the gut wall of Anopheles gambiae.
Protoplasma 73, 191 - 202.

Brooker, B. E. (1971 c):
Fine structure of Bodo saltans and Bodo caudatus (Zoomastigophorea: Protozoa) and their affinities with the Trypanosomatidae.
Bull. British Mus. Nat. Hist. 22, 90 - 102.

Brooker, B. E. (1971 d):
The fine structure of Crithidia fasciculata with special reference to the organelles involved in the ingestion and digestion of protein.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 116, 532 - 563.

Brooker, B. E. (1972):
Modifications in the arrangement of the pellicular microtubules of Crithidia fasciculata in the gut of Anopheles gambiae.
Z. Parasitenk. 40, 271 - 280.

Brooker, B. E (1976):
The cell coat of Crithidia fasciculata.
Parasitology 72, 259 - 267.

Brooker, B. E., Ogden, C. G. (1972):
Encystment of Bodo caudatus.
Protoplasma 74, 397 - 409.

Brooker, B. E., Preston, T. M. (1967):
The cytostome in trypanosomes and allied flagellates.
J. Protozool. 14, (Supp.) 41 - 42.

Brown, K. N., Armstrong, J. A., Valentine, R. C. (1965):
The ingestion of protein molecules by blood forms of Trypanosoma rhodesiense.
Exp. Cell Res. 39, 129 - 135.

Brown, R. C., Evans, D. A., Vickerman, K. (1973):
Changes in oxidative metabolism and ultrastructure accompanying differentiation of the mitochondrion in Trypanosoma brucei.
I. J. P. 3, 691 - 704.

Brugerolle, G. (1978):
The cell structures and their evolution in bodonids and cryptobiids flagellates, phylogenetic relationships.
Proc. 4th Int. Cong. Parasitol. (Warszawa), B 88.

Brugerolle, G., Lom , J., Nohynkova, E., Joyon, L. (1979):
Comparaison et évolution des structures cellulaires chez plusieurs espèces de Bodonidés et Cryptobiidés appartenant aux genres Bodo, Cryptobia et Trypanoplasma (Kinetoplastida, Mastigophora).
Protistologica 15, 197 - 221.

Brumpt, M. E. (1904):
Contribution a l'étude de l'évolution des Hémogrégarines et des Trypanosomes.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 57, 165 - 167.

Brumpt, M. E. (1906 a):
Sur quelques espèces nouvelles de Trypanosomes parasites des poissons d'eau douce; leur mode d'évolution.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 60, 160 - 162.

Brumpt, M. E. (1906 b):
Mode de transmission et évolution des Trypanosomes des poissons. - Description de quelques espèces de Trypanoplasmes des poissons d'eau douce. - Trypanosome d'un crapaud africain.
C. R. Soc. Biol. (Paris 60, 162 - 164.

Brumpt, M. E. (1906 c):
Expériences relatives au mode de transmission des Trypanosomes et des Trypanoplasmes par les Hirudinées.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 61, 77 - 79.

Brun, R. (1980):
Hydroxyurea: Effect on growth, structure, and [^{3}H] thymidine uptake of Trypanosoma brucei procyclic culture forms.
J. Protozool. 27, 122 - 128.

Burnasheva, S. A., Ostravskaja, M. V., Yurzina, G. A. (1968):
The ultrastructure of the flagellum in Strigomonas oncopelti.
Acta Protozool. 6, 357 - 362.

Burreson, E. M. (1979):
Structure and life cycle of Trypanoplasma beckeri sp. n. (Kinetoplastida), a parasite of the cabezon, Scorpaenichthys marmoratus, in Oregon coastal waters.
J. Protozool. 26, 343 - 347.

Burreson, E. M. (1982):
The life cycle of Trypanoplasma bullocki (Zoomastigophorea: Kinetoplastida).
J. Protozool. 29, 72 - 77.

Burzell, L. A. (1973):
Observations on the proboscis cytopharyns complex an flagella of Rhynchomonas metabolita Pshenin 1964 (zoomastigophorea: Bodonidae).
J. Protozool. 20, 385 - 393.

Cachon, J., Cachon, M., Charnier, M. (1972):
Ultrastructure de bodonide Trypanophis grobbeni Poche, parasite des siphonophores.
Protistologica 8, 223 - 236.

Cheung, P. J., Ruggieri, G. D., Nigrelli, R. F. (1978):
Effects of temperature and salinity on the developmental cycle of Oodinium ocellatum Brown (Mastigophore: Phytomastigophorea: Dinoflagellida).
Proc. 4th Int. Cong. Parasitol. (Warszawa), A 25.

Crawley, H. (1909):
The priority of Cryptobia Leidy, 1846, over Trypanoplasma Laveran and Mesnil, 1901.
Bull. U.S. Bureau Animal Industry 119, 16 - 20.

Cross, G. A. M. (1975):
Identification, purification and properties of clone-specific glycoprotein antigens constituting the surface coat of Trypanosoma brucei.
Parasitology 71, 393 - 417.

Current, W. L. (1980):
Cryptobia sp. in the snail Triadopsis multilineata (Say): Fine structure of attached flagellates and their mode of attachment to the spermatheca.
J. Protozool. 27, 278 - 287.

Daily, D. D. (1978):
Marine fish hematozoa from Maine.
J. Parasit. 64, 361 - 362.

D'Alesandro, P. A. (1966):
Immunological and biochemical studies of ablastin, the reproduction-inhibiting antibody to Trypanosoma lewisi.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 129, 834 - 852.

De Gee, A. L. W., Shah, S. D., Doyle, J. J. (1979):
Trypanosoma vivax: Sequence of antigenic variants in mice and goats.
Exp. Parasit. 48, 352 - 358.

De Souza, W., Meyer, H. (1974):
On the fine structure of the nucleus in Trypanosoma cruzi in tissue culture forms. Spindle fibres in the dividing nucleus.
J. Protozool. 21, 48 - 52.

De Souza, W., Rossi, M. A., Kitajima, E. W., Santos, R., Roitman, I. (1976):
An electron-microscopic study of Herpetomonas sp. (Leptomonas pessoai).
Can. J. Microbiol. 22, 197 - 203.

De Souza, W., Souto-Padron, T. (1980):
The paraxial structure of the flagellum of Trypanosomatidae.
J. Parasit. 66, 229 - 235.

Desser, S. S. (1976):
The ultrastructure of the epimastigote stages of Trypanosoma rotatorium in the leech Batracobdella picta.
Can. J. Zool. 54, 1712 - 1723.

Desser, S. S., McIver, S. B., Jez, D. (1975):
Observations on the role of simuliids and culicids in the transmission of avian and anuran trypanosomes.
I. J. P. 5, 507 - 509.

d'Haese, J., Mehlhorn, H., Peters, W. (1977):
Comparative electron microscope study of pellicular structures in coccidia (Sarcocystis, Besnoitia and Eimeria).
I. J. P. 7, 505 - 518.

Doflein, F., Reichenow, E. (1929):
Lehrbuch der Protozoenkunde - Eine Darstellung der Naturgeschichte der Protozoen mit besonderer Berücksichtigung der parasitischen und pathogenen Formen.
5. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena.

Dwyer, D. M., Langreth, S. G., Dwyer, N. K. (1974):
Evidence for a polysaccaride surface coat in the development stages of Leishmania donovani: A fine structure cytochemical study.
Z. Parasitenk. 43, 227 - 251.

Evans, D. A., Ellis, D. S., Stamford, S. (1979):
Ultrastructural studies of certain aspects of the development of Trypanosoma congolense in Glossina morsitans morsitans.
J. Protozool. 26, 557 - 563.

Freymuller, E., Camargo, E. P. (1981):
Ultrastructural differences between species of trypanosomatids with and without endosymbionts.
J. Protozool. 28, 175 - 182.

Fruit, J., Afchain, D., Petitprez, A., Capron, A. (1978):
Trypanosoma cruzi: Location of a specific antigen on the surface of bloodstream trypomastigote and culture epimastigote forms.
Exp. Parasit. 45, 183 - 189.

Fuge, H. (1968):
Zum Feinbau des Periplasten und der Geißel von Trypanosoma brucei und Trypanosoma gambiense.
Z. Zellforsch. 89, 201 - 211.

Fuge, H. (1969):
Electron microscopic studies on the intra-flagellar structures of Trypanosomes.
J. Protozool. 16, 460 - 466.

Gardiner, P. R., Lamont, L. C., Jones, T. W., Cunningham, I. (1980):
The separation and structure of infective trypanosomes from cultures of Trypanosoma brucei grown in association with tsetse fly salivary glands.
J. Protozool. 27, 182 - 185.

Geigy, R., Steiger, R., Hecker, H. (1970):
Beiträge zur Pinocytose von Trypanosoma (Trypanozoon) brucei Plimmer and Bradford 1899.
Acta Trop. (Basel) 27, 271 - 277.

Gray, M. A., Cunningham, I., Gardiner, P. R., Taylor, A. M., Luckins, A. G. (1981):
Cultivation of infective forms of Trypanosoma congolense in the proboscis of Glossina morsitans.
Parasitology 82, 81 - 95.

Gray, A. R., Luckins, A. G. (1976):
Antigenic variation in salivarian trypanosomes in: Biology of the Kinetoplastida (Lumsden, W. H. R., Evans, D. A., eds.), Academic Press, New York, 1 493 - 542

Heywood, P., Weinman, D. (1978):
Mitosis in the hemoflagellate Trypanosoma cyclops.
J. Protozool. 25, 287 - 292.

Hitchen, E. T. (1974):
The fine structure of the colonial kinetoplastid flagellate Cephalothamnium cyclopum Stein.
J. Protozool. 21, 221 - 231.

Hoare, C. A., Wallace, F. G. (1966):
Developmental stages of trypanosomatid flagellates: a new terminology.
Nature 212, 1385 - 1386.

Hoffman, G. L. (1978):
Recent parasitic problems in North American cultured fishes.
Proc. 4th Int. Cong. Parasitol. (Warszawa), C II, 185 - 186.

Jadin, J. M. (1971):
Cytologie et cytophysiologie des Trypanosomidae.
Acta Zool. Pathol. 53, 5 - 168.

Joyon, L., Lom, J. (1966):
Sur la structure de Costia necatrix Leclercq (Zooflagellé); place systematique de ce Protiste.
C. R. Séances Acad. Sci. (Paris) Ser. D 262, 660 - 663.

Joyon, L., Lom, J. (1969):
Étude cytologique, systematique et pathologique d'Ichthyobodo necator (Henneguy, 1883).
J. Protozool. 16, 705 - 719.

Katz, M., Becker, C. D. (1960):
Cryptobia salmositica, a hemoflagellate parasite of Coho salmon.
Proc. 11th Ann. Nw. Fish Culture Conf. Olympia, Washington, 38 - 40.

Keysselitz, G. (1906):
Generations- und Wirtswechsel von Trypanoplasma borreli Laveran et Mesnil.
Arch. Protistenk. 7, 1 - 74.

Khan, R. A. (1976):
The life cycle of Trypanosoma murmanensis Nikitin.
Can. J. Zool. 54, 1840 - 1849.

Khan, R. A. (1977 a):
Susceptibility of marine fish to trypanosomes.
Can. J. Zool. 55, 1235 - 1241.

Khan, R. A. (1977 b):
Infectivity of Trypanosoma murmanensis to leeches (Johanssonia sp.).
Can. J. Zool. 55, 1698 - 1700.

Khan, R. A. (1977 c):
Blood changes in Atlantic cod (Gadus morhua) infected with Trypanosoma murmanensis.
J. Fish. Res. Board Can. 34, 2193 - 2196.

Khan, R. A. (1978 a):
Longevity of Trypanosoma murmanensis in the marine leech, Johanssonia sp.
Can. J. Zool. 56, 2061 - 2063.

Khan, R. A. (1978 b):
Leeches as vectors of marine fish haematozoa.
Proc. 4th Int. Cong. Parasitol. (Warszawa), C II 203.

Khan, R. A. (1978 c):
A rediscription of Trypanosoma cotti Brumpt and Lebailly, 1904 and its development in the leech, Calliobdella punctata.
Ann. Parasitol. hum. comp. 53, 461 - 466.

Khaybulyayev, K. K. (1970):
On the role of leeches in developmental cycle of blood parasites of fishes.
Parazitologiya 4, 13 - 17.

Killick-Kendrick, R., Molyneux, D. H., Ashford, R. W. (1974):
Leishmania in phlebotomid sandflies. I. Modifications of the flagellum associated with attachment to the midgut and oesophageal valve of the sandfly.
Proc. R. Soc. Ser. B 187, 409 - 419.

Killick-Kendrick, R., Ward, R. D. (1981):
Ecology of Leishmania.
Parasitology 82, 143 - 152.

Klein, R. A., Miller, P. G. G. (1981):
Alternate metabolic pathways in protozoan energy metabolism.
Parasitology 82, 1 - 30.

Laveran, A., Mesnil, F. (1901):
Sur les flagellés à membrane ondulante des poissons (genres Trypanosoma Gruby et Trypanoplasma n. gen.).
C. R. Acad. Sci. (Paris) 133, 670 - 675.

Léger, M. L. (1904 a):
Sur les Hemoflagelles du Cobitis barbatula L.
I. Trypanosoma barbatulae n. sp.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 57, 344 - 345.

Léger, M. L. (1904 b):
Trypanoplasma varium, n. sp., parasite du sang de Cobitis barbatula L.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 57, 345 - 347.

Le Ray, D., Barry, J. D., Vickerman, K. (1978):
Antigenic heterogeneity of metacyclic forms of Trypanosoma brucei.
Nature 273, 300 - 302.

Letch, C. A. (1979):
Host restriction, morphology and isoenzymes among trypanosomes of some British freshwater fishes.
Parasitology 79, 107 - 117.

Lom, J. (1973 a):
Experimental infection of goldfish with blood flagellates,
in: Progress in Protozoology, (4th International Congress on Protozoology, Clermont-Ferrand 1973), Université de Clermont, p. 255.

Lom, J. (1973 b):
Experimental infections of freshwater fishes with blood flagellates.
J. Protozool. 20, Supp. 537.

Lom, J. (1979):
Biology of the trypanosomes and trypanoplasms of fish
in: Biology of the Kinetoplastida,
(Lumsden, W. H. R., Evans, D. A., eds.),
Academic Press, New York 2, 269 - 337.

Lom, J., Nohynkova, E. (1977):
Surface coat of the bloodstream phase of Trypanoplasma borelli.
J. Protozool. 24, Supp. 52 A.

Lom, J., Paulin, J., Nohynkova, E. (1980):
The fine structure of the fish trypanosome, Trypanosoma danilewskyi: I.-Presence of a cytopharyngeal complex in bloodstream trypomastigotes.
Protistologica 16, 365 - 373.

McIntosh, J. R., Porter, K. R. (1967):
Microtubules in the spermatids of the domestic fowl.
J. Cell Biol. 35, 153 - 173.

Mehlhorn, H., Haberkorn, A., Peters, W. (1977):
Electron microscopic studies on developmental stages of Trypanosoma cruzi and their surface coat within the heart and skeletal muscle of experimentally infected mice.
Protistologica 13, 287 - 298.

Mehlhorn, H., Piekarski, G. (1981):
Grundriß der Parasitenkunde,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Mehlhorn, H., Schaub, G. A., Peters, W., Haberkorn, A. (1979):
Electron microscopic studies on Blastocrithidia triatomae Cerisola et al. 1971 (Trypanosomatidae).
Tropenmed. Parasit. 30, 289 - 300.

Meyer, H., De Souza, W. (1976):
Electron microscopic study of Trypanosoma cruzi periplast in tissue cultures. I. Number and arrangement of the peripheral microtubules in the various forms of the parasite's life cycle.
J. Protozool. 23, 385 - 390.

Migala, K. (1967):
A Cryptobia (Trypanoplasma) infection in the blood of Ctenopharyngodon idella Val. bred in the carp farm ponds.
Wiadomosci Parazytologiczne 13, 275 - 278.

Migala, K. (1971):
Observations on the infection by protozoa from the genus Cryptobia (Trypanoplasma) in the blood-vascular system of grasscarp (Ctenopharyngodon idella Val.) bred in carp ponds.
Rocz. Nauk rol., Ser. H, 93, 65 - 73.

Milder, R., Deane, M. P. (1969):
The cytostome of Trypanosoma cruzi and T. conorhini.
J. Protozool. 16, 730 - 737.

Miller, E. N., Turner, M. J. (1981):
Analysis of antigenic types appearing in first relapse populations of clones of Trypanosoma brucei.
Parasitology 82, 63 - 80.

Minchin, E. A. (1909):
Observations on the flagellates parasitic in the blood of freshwater fishes.
Proc. Zool. Soc., No. 1, 2 - 29.

Molyneux, D. H. (1969):
The fine structure of the epimastigote forms of Trypanosoma lewisi in the rectum of the flea, Nosopsyllus fasciatus.
Parasitology 59, 55 - 66.

Molyneux, D. H. (1975):
Trypanosoma (Megatrypanum) melophagium: Modes of attachment of parasites to mid-gut, hind-gut and rectum of the sheep ked Melophagus ovinus.
Acta Trop. (Basel) 32, 65 - 74.

Molyneux, D. H., Ashford, R. W. (1975):
Observations on a trypanosomatid flagellate in a flea Peromyscopsylla silvatica spectabilis.
Ann. Parasitol. 50, 265 - 274.

Mühlpfordt, H. (1975 a):
Elektronenmikroskopische Untersuchung eines im Rind gehaltenen Trypanosoma vivax-Stammes.
Tropenmed. Parasit. 26, 1 - 8.

Mühlpfordt, H. (1975 b):
Vergleichende Kinetoplastmorphologie verschiedener Trypanosomenarten unter besonderer Berücksichtigung von Trypanosoma cruzi.
Tropenmed. Parasit. 26, 239 - 246.

Mühlpfordt, H., Garcia, W. (1973):
Untersuchungen zur Identifizierung eines bisher als Trypanosoma lewisi geführten Laborstammes.
Tropenmed. Parasit. 24, 133 - 142.

Müller, A. H. (1963):
Lehrbuch der Paläozoologie, Bd. II, Teil 1 (Protozoa-Mollusca 1).
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.

Müller, A. H. (1966):
Lehrbuch der Paläozoologie, Bd. III, Teil 1 (Fische im weiteren Sinne und Amphibien).
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.

Needham, E. A. (1969):
Trypanosoma tincae: some ecological aspects.
Parasitology 59, 8 P.

Neumann, R. O. (1909):
Studien über protozoische Parasiten im Blut von Meeresfischen.
Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten 64, 1 - 112.

Paulin, J. J., Lom, J., Nohynkova, E. (1980):
The fine structure of Trypanosoma danilewskyi: II. - Structure and cytochemical properties of the cell surface.
Protistologica 16, 375 - 383.

Paulin, J. J., McGhee, R. B. (1971):
An ultrastructural study of the trypanosomatid Phytomonas elmassiani from the milkweed Asclepias syriaca.
J. Parasit. 57, 1279 - 1287.

Plehn, M. (1903):
Trypanoplasma cyprini nov. sp.
Arch. Protistenk. 3, 175 - 180.

Plehn, M. (1924):
Praktikum der Fischkrankheiten,
E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

Postell, F. J., McGhee, R. B. (1975):
Phytomonas davidi (Trypanosomatidae): Transmission and ultrastructure.
J. Protozool. 22, Supp. 10 A.

Postell, F. J., McGhee, R. B. (1981):
An ultrastructural study of Phytomonas davidi Lafont (Trypanosomatidae).
J. Protozool. 28, 78 - 83.

Preston, T. M. (1966):
In vitro cultivation of Trypanosoma rajae.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 60, 10.

Preston, T. M. (1969):
The form and function of the cytostome-cytopharynx of the culture forms of the elasmobranch haemoflagellate Trypanosoma raiae Laveran & Mesnil.
J. Protozool. 16, 320 - 333.

Putz, R. E. (1972 a):
Cryptobia cataractae sp. n. (Kinetoplastida: Cryptobiidae), a hemoflagellate of some cyprinid fishes of West Virginia.
Proc. Helm. Soc. Washington 39, 18 - 22.

Putz, R. E. (1972 b):
Biological studies on the hemoflagellates Cryptobia cataractae and Cryptobia salmositica.
Bur. Sport. Fish. Wildl., Technical Paper 63, 3 - 25.

Qadri, S. S. (1962 a):
On three new trypanosomes from freshwater fishes.
Parasitology 52, 221 - 228.

Qadri, S. S. (1962 b):
The development in culture of Trypanosoma striati from an indian fish.
Parasitology 52, 229 - 235.

Qadri, S. S. (1962 c):
Trypanoplasma willoughbii n. sp. from British freshwater fish, Salvelinus willoughbii.
Riv. Parassitol. 23, 1 - 9.

Qadri, S. S. (1962 d):
An experimental study of the life cycle of Trypanosoma danilewskyi in the leech, Hemiclepsis marginata.
J. Protozool. 9, 254 - 258.

Ray, S. K., Cross, G. A. M. (1972):
Branched electron transport chain in Trypanosoma mega.
Nature 237, 174 - 175.

Reynolds, E. S. (1963):
The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.
J. Cell Biol. 17, 208 - 213.

Robertson, M. (1907):
Studies on a trypanosome found in the alimetary canal of Pontobdella muricata.
Proc. Roy. Phys. Soc. Edinburgh 17, 83 - 108.

Robertson, M. (1911):
II. Transmission of flagellates living in the blood of certain freshwater fishes.
Phil. Trans. Roy. Soc. London B 202, 29 - 50.

Romeis, B. (1968):
Mikroskopische Technik, 16. Auflage
R. Oldenbourg Verlag, München, Wien.

Rowton, E. D., Lushbaugh, W. B., McGhee, R. B. (1981):
Ultrastructure of the flagellar apparatus and attachment of Herpetomonas ampelophilae in the gut and malpigian tubules of Drosophila melanogaster.
J. Protozool. 28, 297 - 301.

Sanabria, A. (1964):
Ultrastructure of Trypanosoma cruzi in mouse myocardium. II. Crithidial and leishmanial forms.
Exp. Parasit. 15, 125 - 137.

Sanabria, A. (1968):
Ultrastructure of Trypanosoma cruzi in mouse brain.
Exp. Parasit. 23, 379 - 391.

Sanabria, A. (1974):
Ultraestructura del Trypanosoma cruzi.
Acta Cient. Venezolana 25, 137 - 153.

Sanabria, A., Aristimuno J. (1969):
Nuevas investigaciones acerca de la ultraestructura e histoquímica del Tripanosoma cruzi en el cerebro del ratón.
Acta Cient. Venezolana 20, 32 - 39.

Sanabria, A., Aristimuno J. (1970):
Nuevos estudios acerca de la ultraestructura del Trypanosoma cruzi en el miocardio del ratón.
Acta Cient. Venezolana 21, 107 - 118.

Sanabria, A., Aristimuno, J. (1972):
Nuevos estudios ultraestructurales en la miocarditis chagásica aguda del ratón.
Acta Cient. Venezolana23, 22 - 33.

Santore, U. J. (1977):
Scanning electron microscopy and comparative micromorphology of the periplast of Hemiselmis rufescens, Chroomonas sp., Chroomonas salina and members of the genus Cryptomonas (Cryptophyceae).
Br. phycol. J. 12, 255 - 270.

Schäperclaus, W. (1979):
Fischkrankheiten,4. Auflage,
Akademie-Verlag, Berlin.

Schubert, G. (1966):
Zur Ultracytologie von Costia necatrix Leclerq unter besonderer Berücksichtigung des Kinetoplast Mitochondriums.
Z. Parasitenk. 27, 271 - 286.

Simpson, L. (1968 a):
Behavior of the kinetoplast of Leishmania tarentolae upon cell rupture.
J. Protozool. 15, 132 - 136.

Simpson, L. (1968 b):
The leishmania-leptomonad transformation of Leishmania donovani: Nutritional requirements, respiration changes and antigenic changes.
J. Protozool. 15, 201 - 207.

Smolikova, V., Suchankova, E., Lom, J. (1977):
Growth of the carp trypanosome, T. danilewskyi, in fish tissue culture.
J. Protozool. 24, 54 A.

Steiger, R. (1971):
Some aspects of the surface coat formation in Trypanosoma brucei.
Acta Trop. (Basel) 28, 341 - 346.

Steiger, R. F. (1973):
On the ultrastructure of Trypanosoma (Trypanozoon) brucei in the course of its life cycle and some related aspects.
Acta Trop. (Basel) 30, 64 - 168.

Steinert, M., Novikoff, A. B. (1960):
The existence of a cytostome and the occurrence of pinocytosis in the trypanosome, Trypanosoma mega.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 8, 563 - 569.

Strauss, P. R. (1971):
The effect of homologous rabbit antiserum on the growth of Leishmania tarentolae - a fine structure study
J. Protozool. 18, 147 - 156

Swale, E. M. F. (1973):
A study of the colourless flagellate Rhynchomonas nasuta (Stokes) Klebs
Biol. J. Linn. 5, 255 - 264

Thiery, J. P. (1967):
Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique
J. Microscopie (Paris) 6, 987 - 1018

Valentin, G. (1841):
Ueber ein Entozoon im Blute von Salmo fario
Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med. (Berlin) 5, 435 - 436

Vickerman, K. (1966):
Replication of the mitochondrion in Trypanosomes in: Electron microscopy (R. Uyeda,ed.) Maruzen Co. Ltd. (Sixth International Congress For Electron Microscopy, Kyoto) pp. 245 - 246.

Vickerman, K. (1969 a):
On the surface coat and flagellar adhesion in trypanosomes.
J. Cell Sci. 5, 163 - 193.

Vickerman, K. (1969 b):
The fine structure of Trypanosoma congolense in its bloodstream phase.
J. Protozool. 16, 54 - 69.

Vickerman, K. (1973):
The mode of attachment of Trypanosoma vivax in the proboscis of the tsetse fly Glossina fuscipes: an ultrastructural study of the epimastigote stage of the trypanosome.
J. Protozool. 20, 394 - 404.

Vickerman, K. (1974):
The ultrastructure of pathogenic flagellates
in: Trypanosomiasis and Leishmaniasis with special reference to Chagas' disease
Ciba Foundation Symposium ASP, Amsterdam 20 (new series), 171 - 190.

Vickerman, K. (1976):
The diversity of the kinetoplastid flagellates,
in: Biology of the Kinetoplastida (Lumsden, W. H. R., Evans, D. A., eds.), Academic Press, New York
1, 1 - 34.

Vickerman, K. (1977 a):
The dyskinetoplasty mutation in Trypanosoma evansi and other flagellates.
Protozoology 3, 57 - 69.

Vickerman, K. (1977 b):
DNA throughout the single mitochondrion of a kinetoplastid flagellate: Observations on the ultrastructure of Cryptobia vaginalis (Hesse, 1910).
J. Protozool. 24, 221 - 233.

Vickerman, K. (1978 a):
Antigenic variation in Trypanosomes.
Nature 273, 613 - 617.

Vickerman, K. (1978 b):
The free-living trypanoplasms: Descriptions of three species of the genus Procryptobia n. g., and redescription of Dimastigella trypaniformis SANDON, with notes on their relevance to the microscopical diagnosis of disease in man and animals.
Trans. Am. Micros. Soc. 97, 485 - 502.

Vickerman, K., Luckins, A. G. (1969):
Localization of variable antigens in the surface coat of Trypanosoma brucei using Ferritin conjugated antibody.
Nature 224, 1125 - 1126.

Vickerman, K., Preston, T. M. (1970):
Spindle microtubules in the dividing nuclei of trypanosomes.
J. Cell Sci. 6, 365 - 383.

Vickerman, K., Preston, T. M. (1976):
Comparative cell biology of the kinetoplastid flagellates,
in: Biology of the Kinetoplastida (Lumsden, W. H. R., Evans, D. A., eds.), Academic Press, New York 1, 35 - 130

Vickerman, K., Tetley, L. (1977):
Recent ultrastructural studies on trypanosomes.
Ann. Soc. belge Méd. trop. 57, 441 - 455.

Walcott, C. D. (1911):
Middle Cambrian Annelida.
Smithsonian Misc. Coll. 57, 109 - 144.

Wales, J. H., Wolf, H. (1955):
Three protozoan diseases of trout in California.
California Fish and Game 41, 183 - 187.

Wright, K. A., Hales, H. (1970):
Cytochemistry of the pellicle of bloodstream forms of Trypanosoma (Trypanozoon) brucei.
J. Parasit. 56, 671 - 683.

7. Bildteil

7.1. Verzeichnis der Abkürzungen

B	Basalapparat der Geißel
BA	Bakterium
C	Cytopharynx, Zellschlund
CS	Cytostom, Zellmund
DE	Darmepitel des Egelvorderdarmes
E	Erythrozyt
EG	eosinophiler Granulozyt
ER	endoplasmatisches Retikulum
F	Flagellum, Geißel
F_1^*	freie Geißel
F_2^*	Schleppgeißel
FT	Geißeltasche, Flagellartasche
G	Golgi-Apparat
GR	dunkle Grana
GV	Golgi-Vesikel
HS	hinterer Saugnapf
K*	Kinetoplast
L	elektronendichtes Granulum, ev. aus Lipid
M	Mitochondrium
MT	Mikrotubuli
MU	multivesikulärer Körper
MV	Mikrovilli
N*	Nukleus, Zellkern
NS	Kernspindel
P	Parasit(en)
PFT	Postflagellartasche
PK	präoraler Kamm
PR	"paraxial rod", Paraxialstrang
R	Rüssel
SC	"surface coat"
SE	Seitenkanal
SMT	subpellikuläre Mikrotubuli
V	helle Vakuole
VE	Vesikel
VS	vorderer Saugnapf

*Die Indizes a, b bezeichnen Tochterorganellen

7.2. Abbildungen

Abb. 1 - Schematische Darstellung der experimentellen Infektionen

1. Von mit Trypanoplasma sp. infizierten Karpfen wurde durch Herzpunktion Blut gewonnen und intraperitoneal in andere nicht-infizierte Fische inokuliert. Eine derartige Blutübertragung führte lediglich bei Karpfen, nicht aber bei Karauschen, Schleien, Moderlieschen und Forellen zu einer Infektion.

2. An mit Trypanoplasma sp. infizierten Karpfen wurden nachgezogene nicht-parasitierte Fischegel angesetzt, und diese erwarben, selbst bei nur einstündiger Saugzeit, eine Infektion. Anschließend hungerten die Egel 3 - 60 Tage, ehe sie erneut an Karpfen angesetzt wurden. Die Karpfen erwarben eine Infektion, wenn die Egel vor ihrem erneuten Saugen je nach Umgebungstemperatur mindestens 10 - 23 Tage gehungert hatten. Weiterhin wurde von Egeln, die nach der Hungerperiode bis zu 9 Stunden erneut gesogen hatten, und solchen, die nicht wieder an Karpfen angesetzt wurden, der Vorder- und Hinterdarminhalt getrennt präpariert und intraperitoneal in nicht-infizierte Karpfen inokuliert. Meist führte nur der Vorderdarminhalt, nicht aber der Inhalt des hinteren Verdauungstraktes in der Folge zu einer Infektion der inokulierten Karpfen und dies auch nur, wenn die Egel vorher mindestens 3 Stunden gesogen hatten.

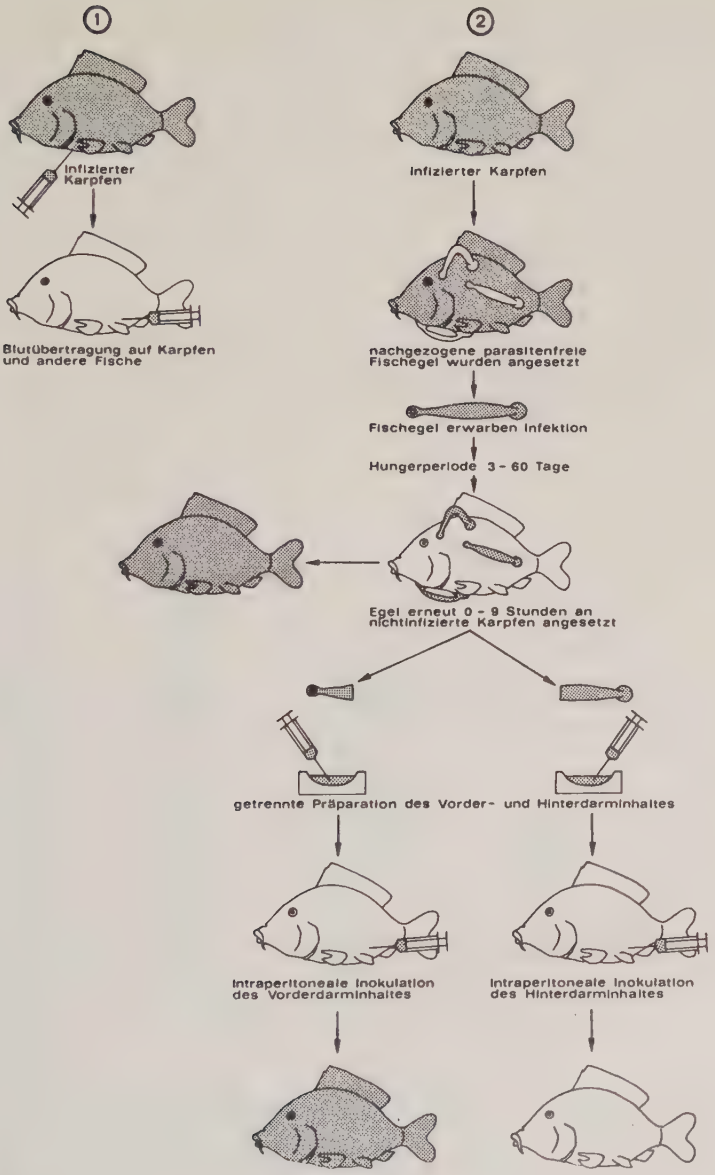

①
②
Infizierter Karpfen
Infizierter Karpfen
Blutübertragung auf Karpfen und andere Fische
nachgezogene parasitenfreie Fischegel wurden angesetzt
Fischegel erwarben Infektion
Hungerperiode 3 - 60 Tage
Egel erneut 0 - 9 Stunden an nichtinfizierte Karpfen angesetzt
getrennte Präparation des Vorder- und Hinterdarminhaltes
Intraperitoneale Inokulation des Vorderdarminhaltes
Intraperitoneale Inokulation des Hinterdarminhaltes

Abb. 1

Tage nach experimenteller Infektion der Fischegel		3	5	10	15	23	41	60
Temperatur [°C]	10 – 15	—	—	—	—	+	+	+
	18 – 20			+ — ●	+	+		
	23 – 25		—	+	+			

Abb. 2

Temperaturabhängigkeit der Präpatenz von Trypanoplasma im Fischegel. Experimentell infizierte Egel sogen nach verschieden langer Hungerperiode erneut an Karpfen. — = Infektion der Fische negativ verlaufen; + = Infektion in der Mehrzahl der Fälle erfolgreich; ● = Nur 1 Fisch (von 5) erkrankt.

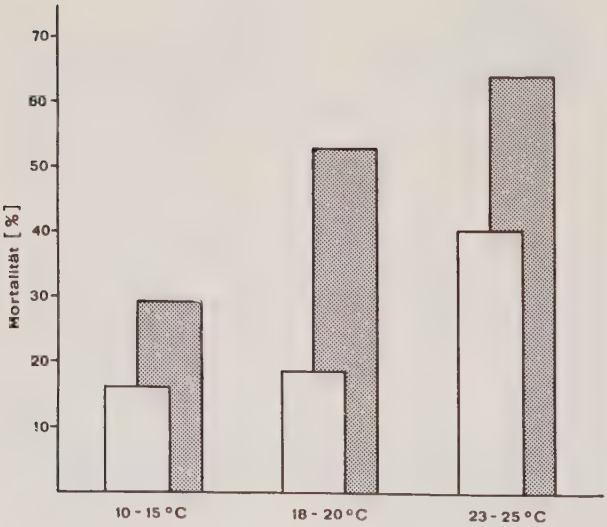


Abb. 3

Sterblichkeit bei einsömmrigen Karpfen nach erfolgreicher ▨ und nicht erfolgreicher ▭ Infektion mit Trypanoplasma innerhalb von 100 Tagen p.i.. 100 % entspricht der Gesamtheit der erkrankten oder nicht erkrankten Tiere in den jeweiligen Temperaturbereichen.

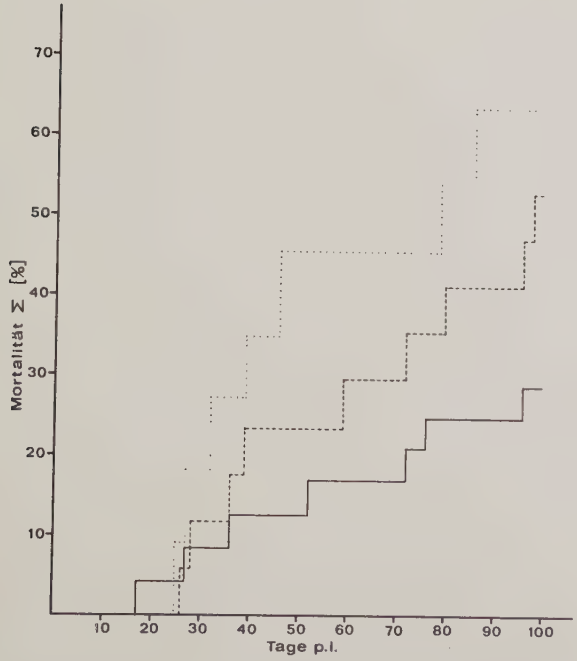


Abb. 4
Sterblichkeit von erkrankten einsömmrigen Karpfen nach experimenteller Infektion mit Trypanoplasma in den Temperaturbereichen —— 10-15°C, n = 24; ----- 18-20°C, n = 17; ····· 23-25°C, n = 11. n = jeweils 100%.

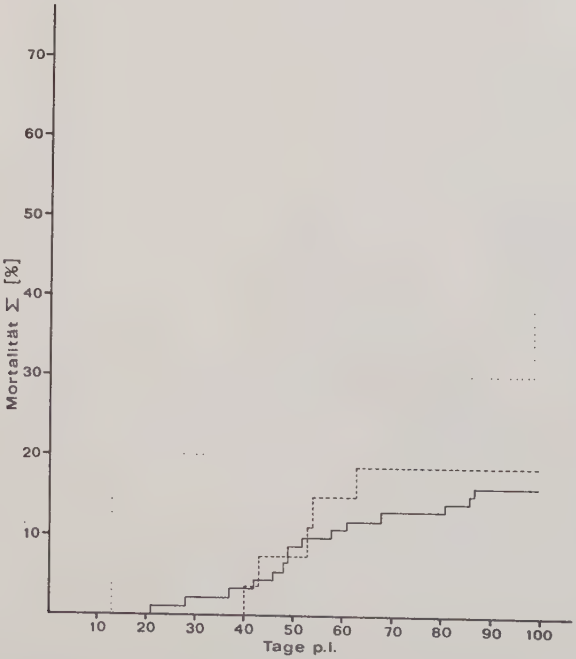


Abb. 5
Sterblichkeit von nicht erkrankten einsömmrigen Karpfen nach experimenteller Infektion mit Trypanoplasma in den Temperaturbereichen —— 10-15°C, n = 93; ----- 18-20°C, n = 27; ····· 23-25°C, n = 10. n = jeweils 100%.

Abb. 6 - 7 — Piscicola geometra. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen.

6. Nachgezogener Jungegel, ca. 1 Woche alt.

7. Adulter Egel. Mit dem weit vorgestreckten Rüssel (R) wird der Fisch während der Blutmahlzeit punktiert.

6

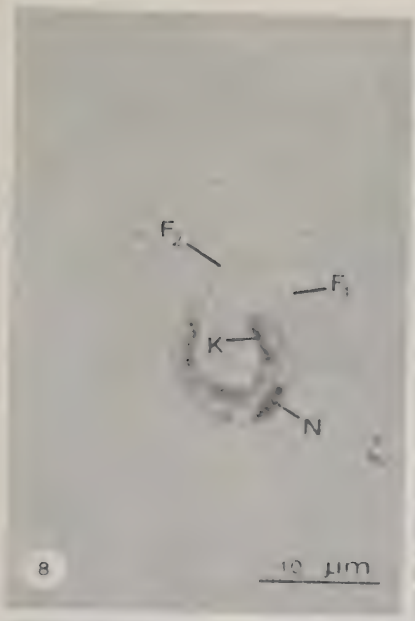
7

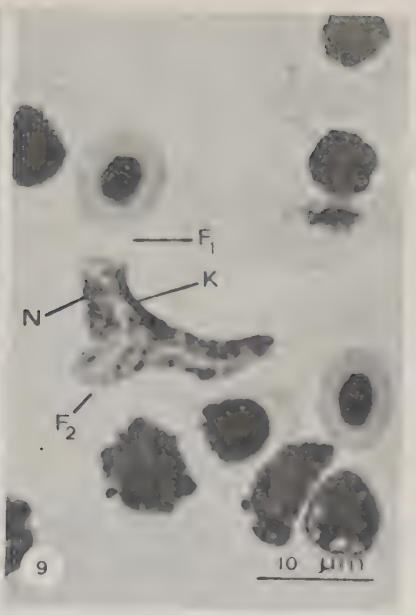
Abb. 8 - 11 — Trypanoplasma sp. Lichtmikroskopische Aufnahmen.

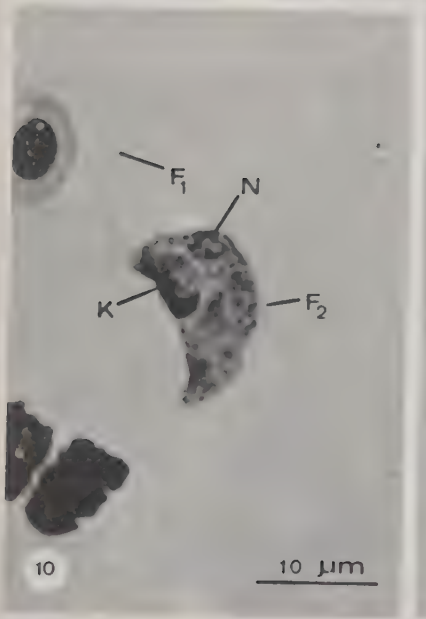
8. Schlanke Form im Karpfenblut, wie sie meist zu Beginn einer Infektion anzutreffen ist. Die Schleppgeißel (F_2) weist ein langes freies Geißelende auf.

9, 10. Breite Parasitenformen mit stark formveränderlichem Körper. Diese Formen treten vermehrt bei Andauern der Patenz oder bei Kaltwasserhälterung im Blut der Wirtsfische auf. Die Schleppgeißel (F_2) zeigt nur ein kurzes freies Geißelende.

11. Egelstadium 18 Stunden p.i. Wenn nicht-parasitierte Egel infiziertes Fischblut aufgenommen haben, entstehen im Egeldarm durch Teilung zunächst kleine gedrungene Trypanoplasmastadien.


F2
F1
K
N
8
10 µm


F1
K
N
F2
9
10 µm


F1
N
K
F2
10
10 µm

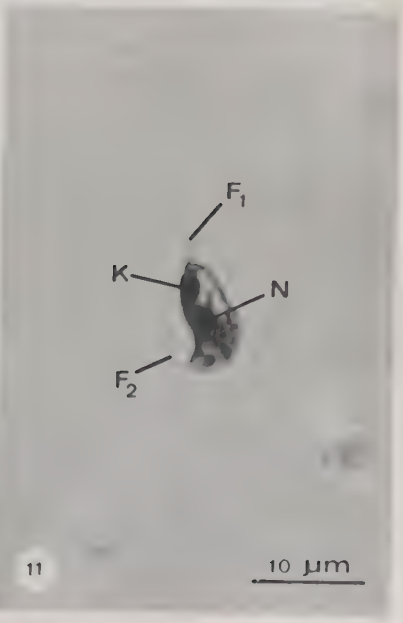
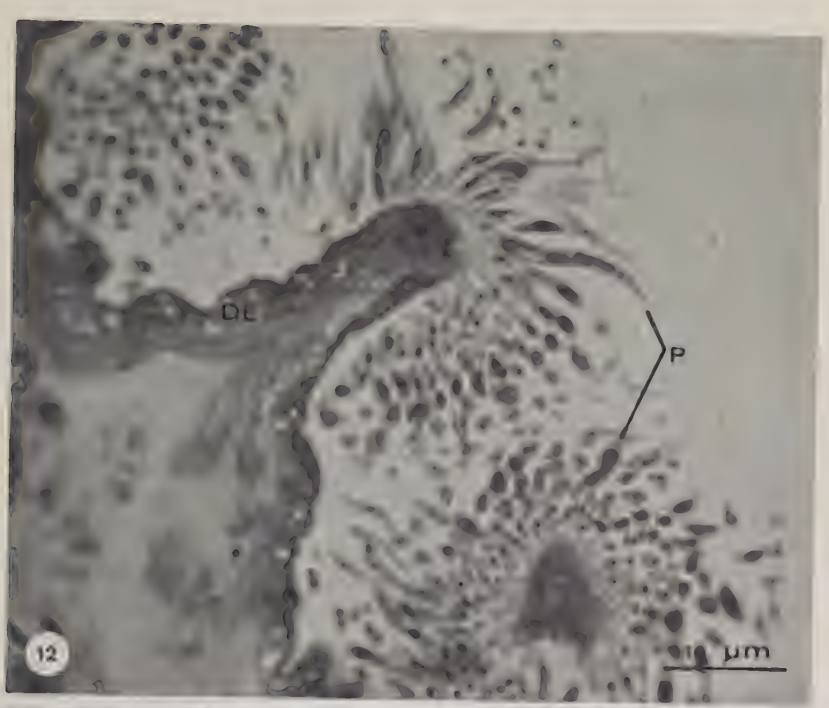

F1
K
N
F2
11
10 µm

Abb. 12 - 13 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Lichtmikroskopische Aufnahmen.

12. Schlanke Parasitenstadien im vorderen Abschnitt des Egeldarmes. Die Flagellaten heften sich mit ihrem Vorderende an das Darmepithel an. 23 Tage p.i.

13. Bei erneuter Blutmahlzeit der Egel lösen sich die Parasiten vom Darmepithel ab. Nach einstündigem Saugen erscheinen sie noch schlank.


DL
P
12
10 µm

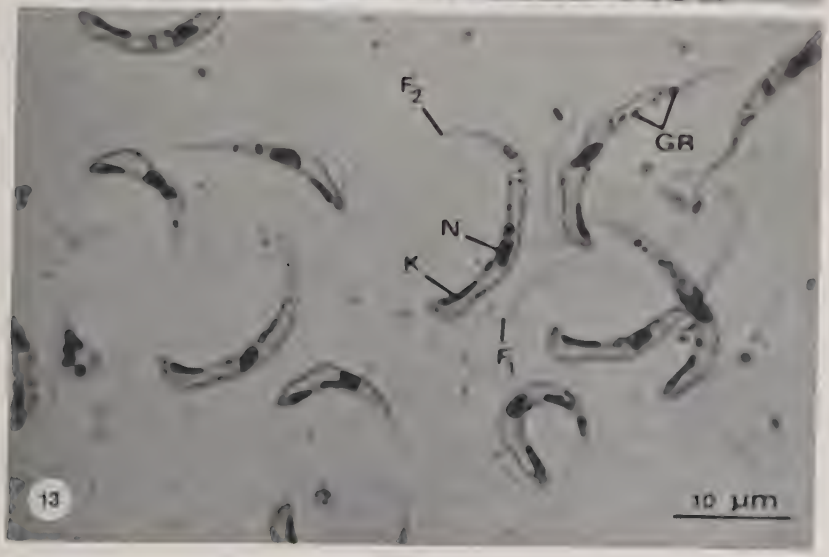
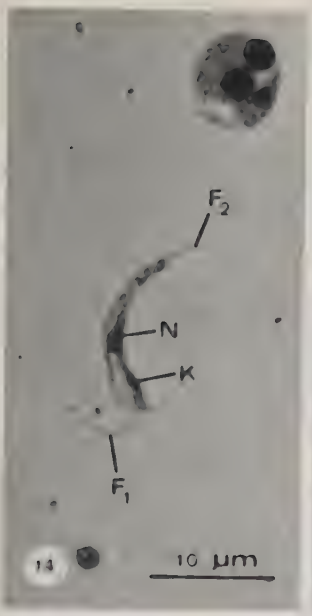

F2
GR
N
K
F1
13
10 µm

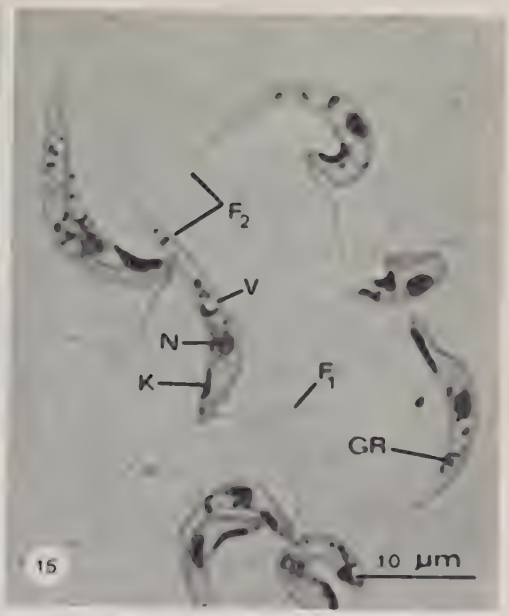
Abb. 14 - 17 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Lichtmikroskopische Aufnahmen.

14. 60 Stunden nach der Aufnahme infizierten Fischblutes haben sich kleine schlanke Parasitenformen gebildet.

15. Bei erneutem Saugen der Egel finden sich nach 5 Stunden leicht gedrungen wirkende Flagellatenformen im Egeldarm.

16, 17. 10 Stunden nach erneutem Saugen zeigen sich vermehrt stark gedrungene Formen. Im Plasma der Parasitenzelle treten helle Vakuolen auf.


F2
N
K
F1
14
10 µm


F2
V
N
K
F1
GR
15
10 µm

F1
K
N
V
F2
16
10 µm

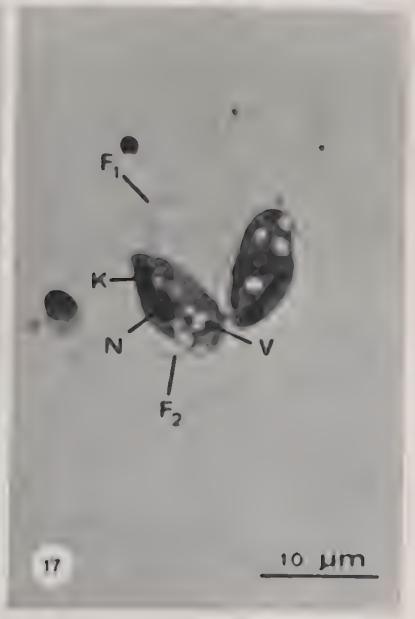
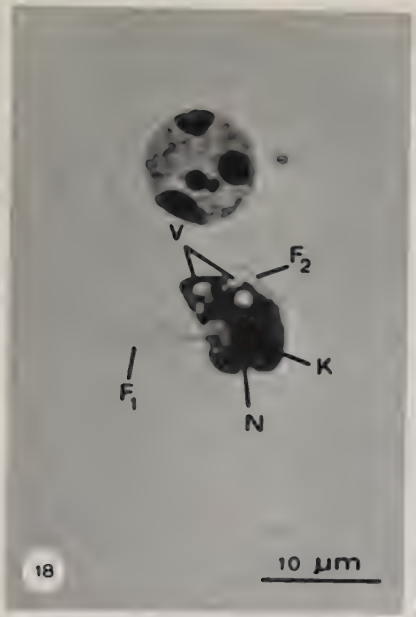

F1
K
N
V
F2
17
10 µm

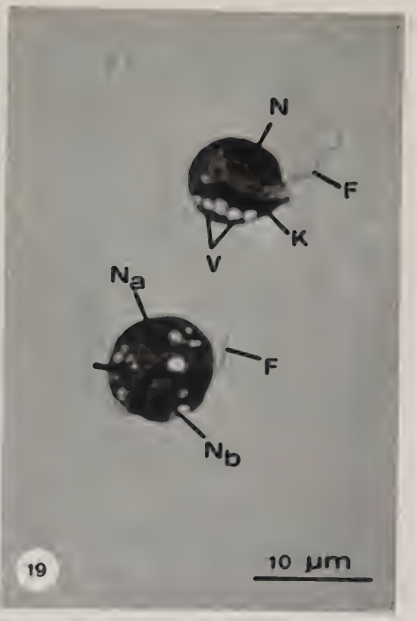
Abb. 18 - 21 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Lichtmikroskopische Aufnahmen.

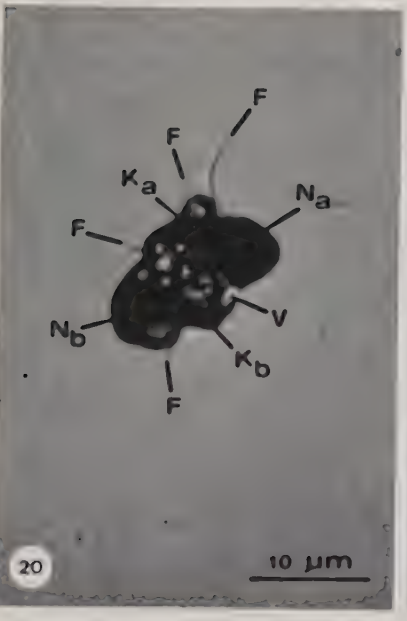
18. Abgekugelte Parasitenform kurz vor Beginn der Zellteilung. 12 Stunden nach Beginn der Blutmahlzeit der Egel.

19. Teilungsstadium von Trypanoplasma sp. Der Zellkern hat sich bereits geteilt (N_a, N_b); die Kinetoplastendurchschnürung ist jedoch noch nicht abgeschlossen (Pfeil). 18 Stunden nach Saugbeginn der Egel.

20, 21. Beginnende Plasmadurchschnürung. Zellkern, Kinetoplast und Geißeln haben sich bereits verdoppelt. 24 Stunden nach Saugbeginn.


V
F2
F1
K
N
18
10 µm


N
F
V
K
Na
F
Nb
19
10 µm


F
F
Ka
Na
F
V
Nb
Kb
F
20
10 µm

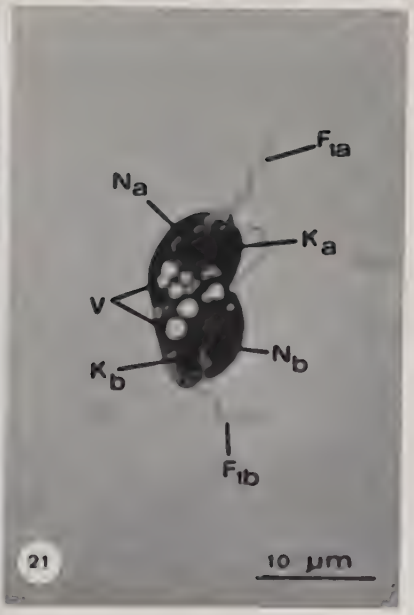
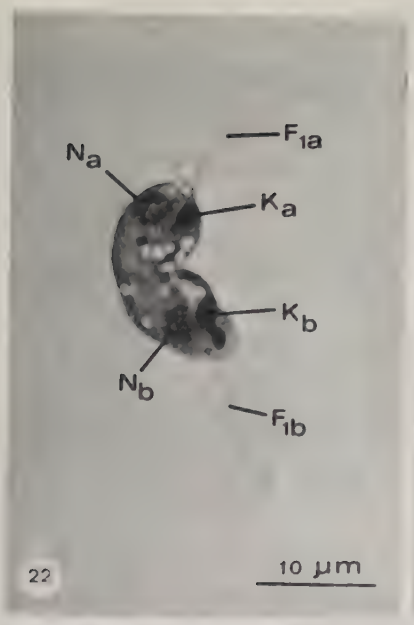
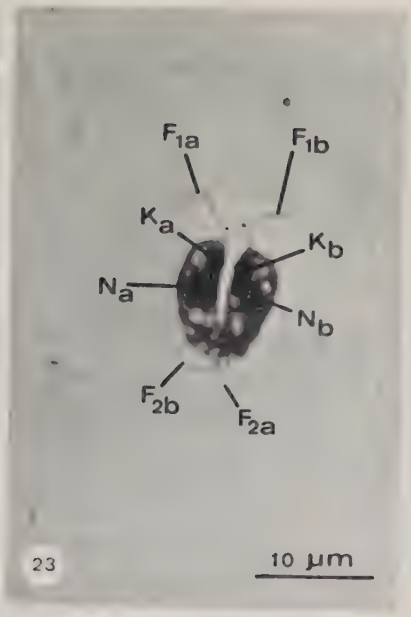

F1a
Na
Ka
V
Kb
Nb
F1b
21
10 µm

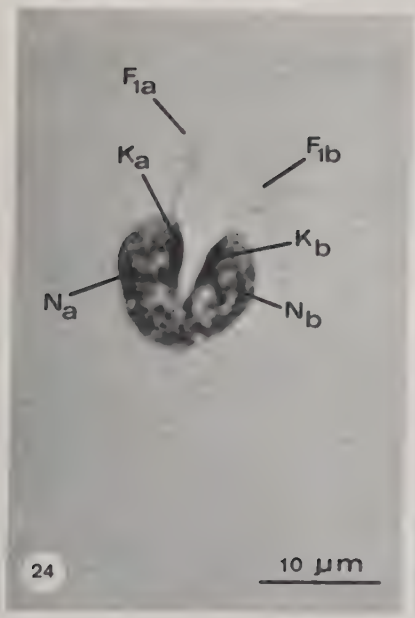
Abb. 22 - 25 — Trypanoplasma sp. Teilungsstadium im Egeldarm. Lichtmikroskopische Aufnahmen.

22 - 24. Fortgeschrittene Zellteilung. Zellkern, Kinetoplast und Geißeln haben sich verdoppelt. Das Zellplasma schnürt sich durch. Eine Verminderung der großen hellen Vakuolen setzt ein. 24 Stunden nach Saugbeginn.

25. Teilungsstadium 60 Stunden nach Saugbeginn. Die großen hellen Vakuolen sind fast gänzlich verschwunden.


N_a
F_{1a}
K_a
K_b
N_b
F_{1b}
22
10 µm


F_{1a}
F_{1b}
K_a
K_b
N_a
N_b
F_{2b}
F_{2a}
23
10 µm


F_{1a}
K_a
F_{1b}
K_b
N_a
N_b
24
10 µm

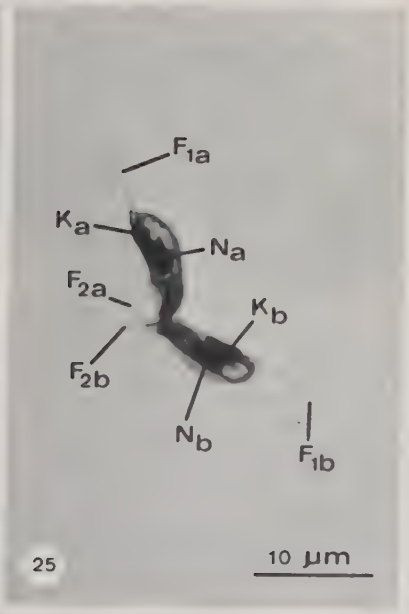

F_{1a}
K_a
N_a
F_{2a}
K_b
F_{2b}
N_b
F_{1b}
25
10 µm

Abb. 26 - 27 — *Trypanoplasma sp.* Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

26. Längsschnitt durch eine Fischform im Karpfenblut. Der große Kinetoplast (K) liegt an der Peripherie der Parasitenzelle.

27. Schnitt durch die Peripherie einer Fischform. Die subpellikulären Mikrotubuli (SMT) des Cytoskeletts stehen über zwei gegenständige Arme miteinander in Verbindung. Der Kinetoplast (K) zeigt die fädige Struktur der DNA-Fibrillen.

SE
F2
V
N
K
M
ER
N
E
1 µm
SMT
K
ER
0,5 µm
F2
SE
28
27

Abb. 28 - 29 — Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

28. Cryptobia vaginalis aus der Vagina von Piscicola geometra. Der Zellkörper der Parasiten enthält große symbiontische Bakterien (BA).

29. Trypanoplasma sp. Blutform im Egeldarm. 5 Stunden p.i.

V
BA
M
BA
SMT
SE
F2
28
1 µm

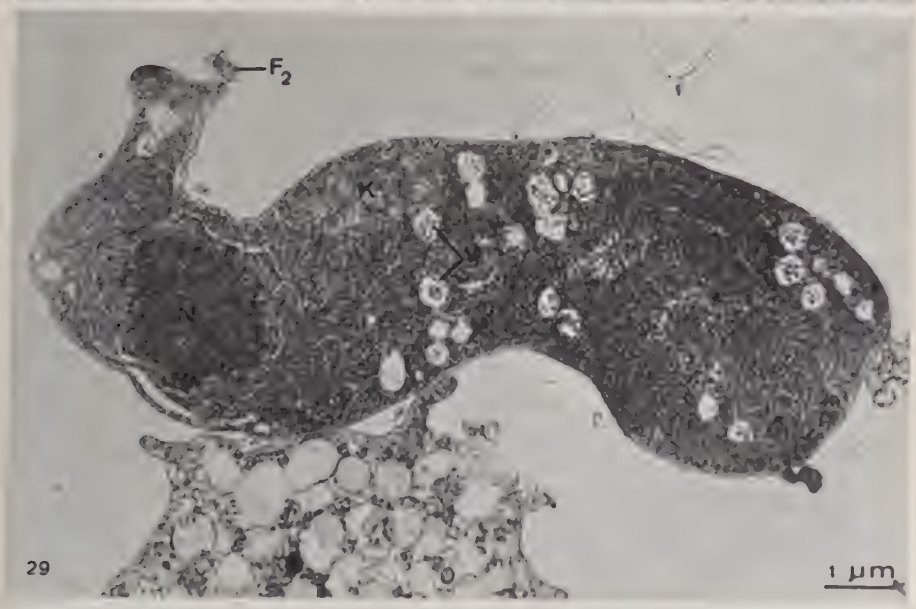

F2
K
N
29
1 µm

Abb. 30 - 31 — Trypanoplasma sp. Gedrungene Formen aus dem Egeldarm.

30, 31. Zur Gesamtdarstellung der Parasiten wurde die Negative-Staining-Technik von D'Haese et al. (1977) modifiziert. Der die Körperoberfläche von Trypanoplasma sp. vorwölbende präorale Kamm (PK) mündet in das Cytostom (CS).

F1
CS
PK
C
F2
30
1 µm

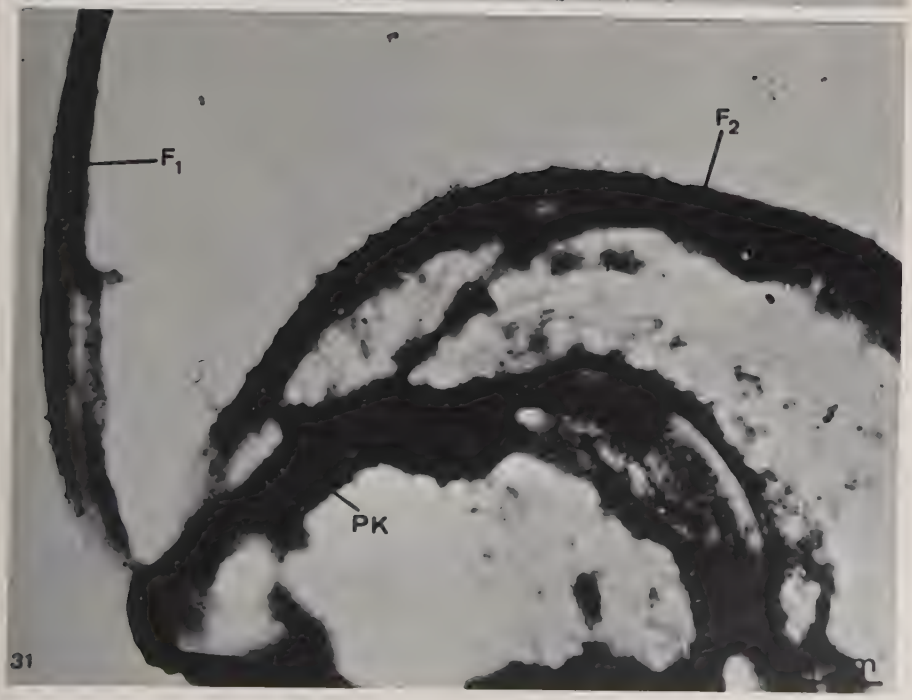
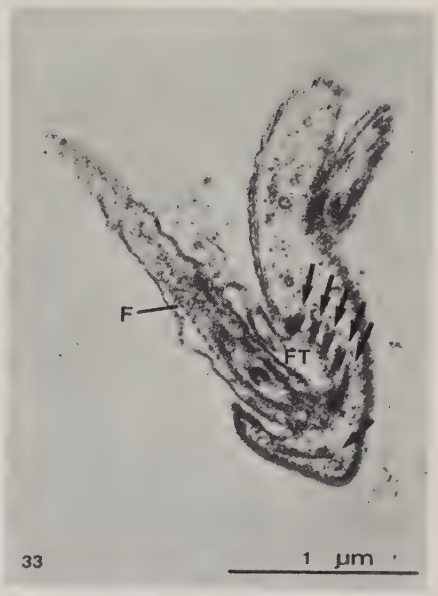

F2
F1
PK
31

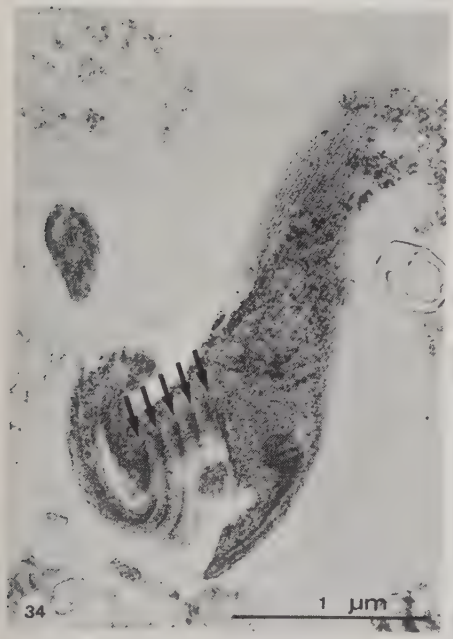
Abb. 32 - 35 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

32 - 34. Tangentialschnitte durch den vorderen Teil der Parasitenzelle. Die Mikrotubuli des präoralen Kammes (Pfeile) beginnen am Grunde der Geißeltasche (FT) und umrunden diese.

35. Schnitt durch die Geißeltasche. Die beiden Flagellen (F) besitzen im Taschenbereich keinen Paraxialstrang. Die Geißeltasche selbst zeigt eine flache Ausbuchtung (PFT).

F
FT
32
1 µm


F
FT
33
1 µm


34
1 µm

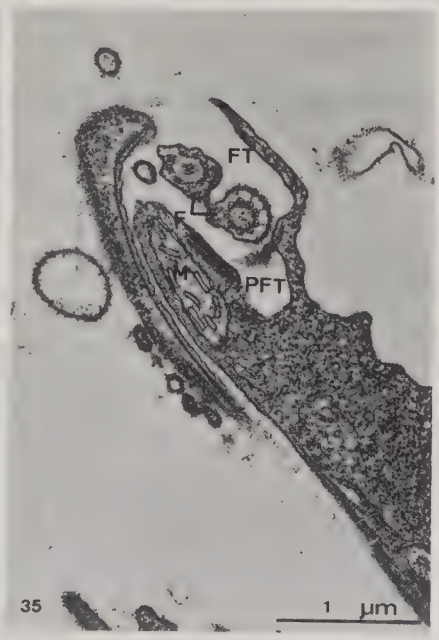

FT
F
M
PFT
35
1 µm

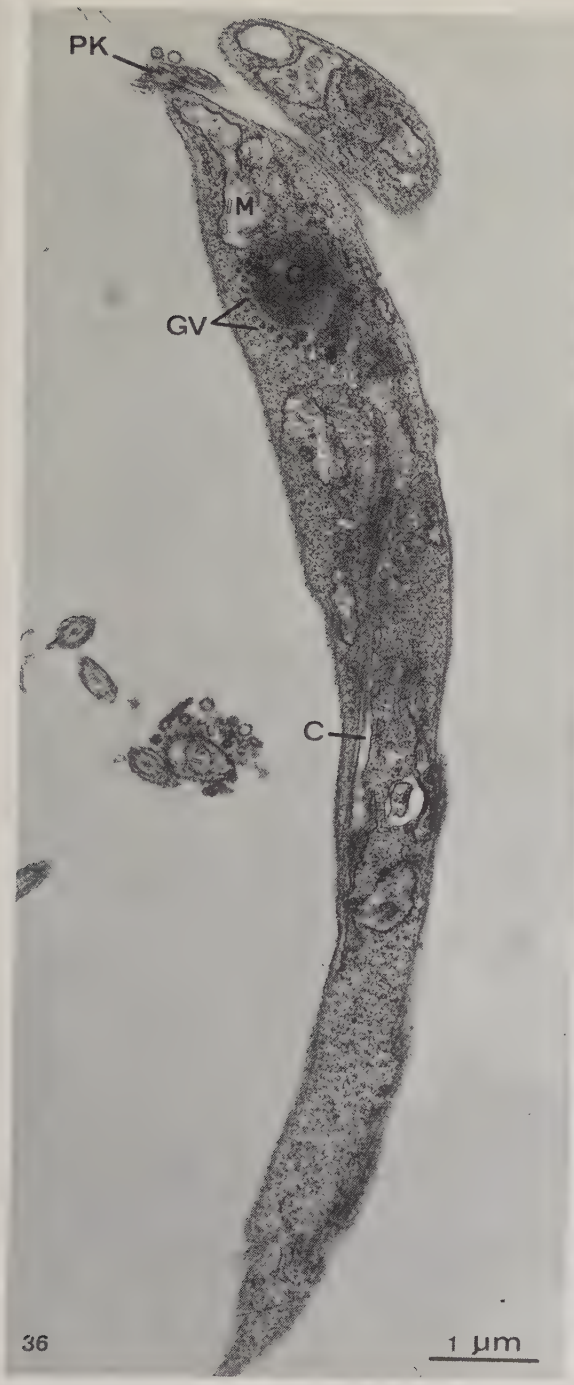
Abb. 36 - 39 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

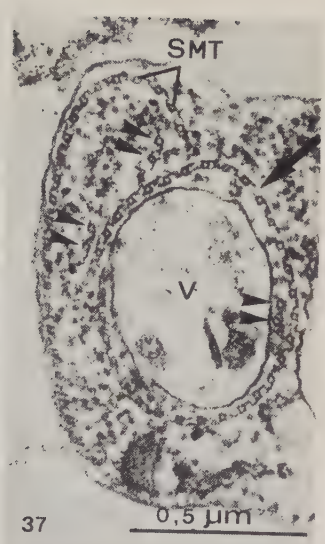
36. Längsschnitt durch eine schlanke Form im Egeldarm. Der Zellschlund (C) ragt weit ins Cytoplasma hinein. Der Golgi-Apparat (G) liegt im vorderen Körperdrittel des Flagellaten.

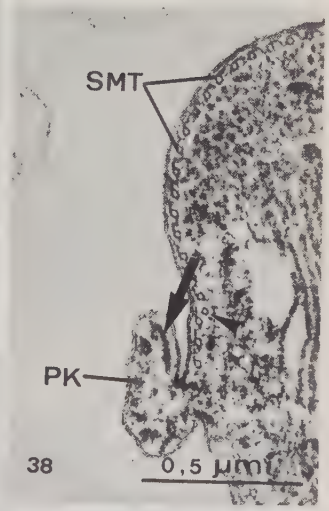
37. Der Schnitt durch die Randzone zeigt die Ausbildung zusätzlicher subpellikulärer Mikrotubuli (SMT) im Bereich einer großen Vakuole (V). Die Mikrotubuli liegen in Einzelpaaren (kleine Pfeile) und aneinandergereiht (großer Pfeil) um die Vakuole.

38. Das periphere Cytoskelett aus subpellikulären Mikrotubuli (SMT) zeigt eine Unterbrechung im Bereich des präoralen Kammes (PK). Der Kamm wird seitlich durch elektronendichtes Material (großer Pfeil) gestützt. Vereinzelt finden sich ins Cytoplasma abgesunkene subpellikuläre Mikrotubuli (kleiner Pfeil).

39. Schnitt durch die Peripherie eines Flagellaten. Der Zellschlund (C) ist auf einer Seite von 8 Mikrotubuli (Pfeile) unterlegt.


PK
M
GV
C
36
1 µm


SMT
V
37
0,5 µm


SMT
PK
38
0,5 µm

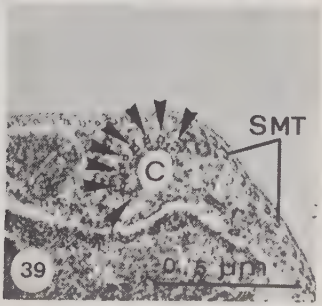

SMT
C
39
0,5 µm

Abb. 40 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahme.

40. Im vorderen Bereich des Egeldarmes heften sich die schlanken Parasitenstadien mit ihrem Vorderende an das Darmepithel an. Im Bereich der Kinetoplastentasche (K) sind die mitochondrialen Cristae reduziert. Der im vorderen Körperdrittel liegende Golgi-Apparat (G) besteht aus einem Stapel flacher Zisternen, die an ihren Rändern kleine Vesikel (GV) abgliedern.

PR
F2
SE
M
N
PK
F2
L
G
K
GV
MV
DE
40
1 µm

Abb. 41 - 44 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

41. Schnitt durch das Vorderende eines Flagellaten. Die beiden Geißeln entspringen zwei Basalapparaten (B_1, B_2) in unmittelbarer Nähe des Kinetoplasten (K). Die Paraxialstränge beider Geißeln (PR) beginnen erst 0,2 µm vom Grunde der Geißeltasche entfernt (Pfeil).

42. Wenn die Fischegel frisches Fischblut aufgenommen haben, zeigen sich häufig Kondensationen der DNA-Fäden des Kinetoplasten (K).

43. Einige Parasiten zeigen die Anordnung der Kinetoplasten-DNA in fädigen Rosetten nach erneuter Blutmahlzeit der Egel (K).

44. Der Querschnitt durch den Kinetoplasten zeigt das feinverteilte Netzwerk der DNA-Fibrillen (K).

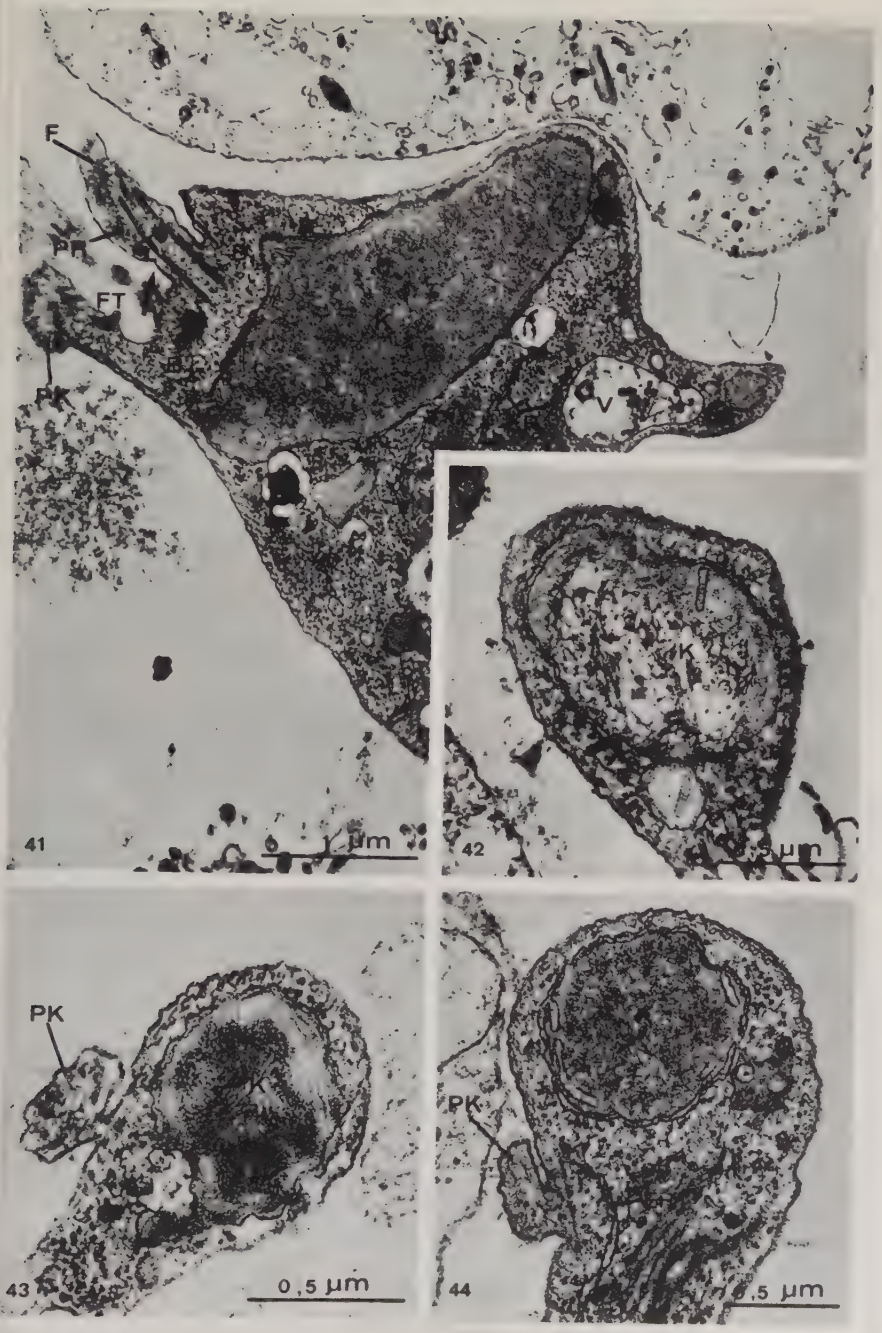

F
PR
FT
PK
K
V
41
1 µm
K
42
0,5 µm
PK
K
43
0,5 µm
PK
44
0,5 µm

Abb. 45 - 47 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

45. Längsschnitt durch einen Parasiten. Die Schleppgeißel (F_2) wird über desmosomenartige Strukturen (große Pfeile) an einzelnen Stellen der Körperoberfläche fixiert. Der Zellschlund (C) wird von Mikrotubuli (kleine Pfeile) begleitet. Zwei multivesikuläre Körper (MU) unterschiedlicher Elektronendichte liegen in der Zellmitte.

46. Der Querschnitt durch den mittleren Körperbereich zeigt einen großen multivesikulären Körper (MU), der in elektronendichter Matrix elektronenoptisch hell erscheinende Vesikel enthält.

47. Ein zweiter Typ multivesikulärer Körper (MU) enthält in elektronenoptisch hell erscheinender Grundsubstanz dunklere Einschlüsse.

F2
RER
N
MU
O
45
1 µm

F2
SE
M
MU
46
0,5 µm

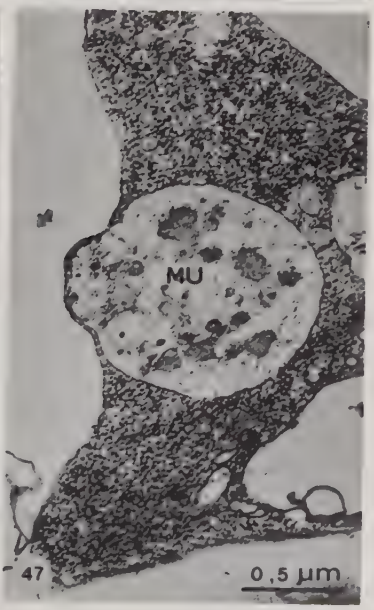

MU
47
0,5 µm

Abb. 48 - 51 — Trypanoplasma sp. Querschnitte durch Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen

48. Unter der Schleppgeißel (F_2) begrenzt ein in Körperlängsrichtung verlaufender Seitenkanal (SE) das periphere Cytoskelett (SMT). Im Zellplasma liegen verschiedene Vakuolen (V), die teilweise Einschlüsse enthalten und die von einer Membran umgeben werden. Bei den elektronendichten Grana (L) könnte es sich um Lipid-Einschlüsse handeln. An der Peripherie der Zelle ist ein aus vielen Membranen bestehender Körper (Pfeil) sichtbar.

49. Die Zisternen des Golgi-Apparates (G) stehen miteinander in Verbindung (Pfeil). Das Mitochondrium (M) ist in mehrere Äste aufgespalten.

50. Der Querschnitt durch das Hinterende eines Flagellaten zeigt einen großen elektronendichten Einschluß, der Lipide beinhalten könnte.

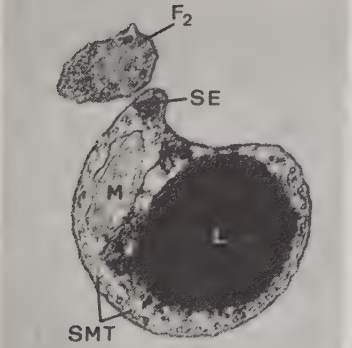
51. Der Zellschlund (C) wird auf einer Seite von Mikrotubuli (Pfeile) begleitet. Im Plasma liegen große membranbegrenzte Vakuolen (V).

F2
SE
M
V
K
L
C
ER
V
SMT
1 µm

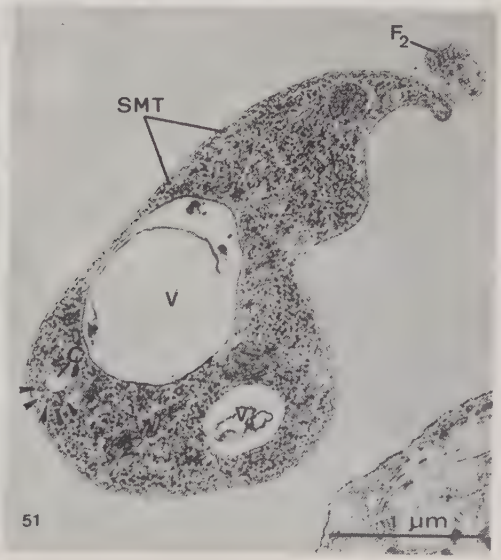
48

F2
GV
M
F1
1 µm

49


F2
SE
M
L
SMT
0,5 µm

50

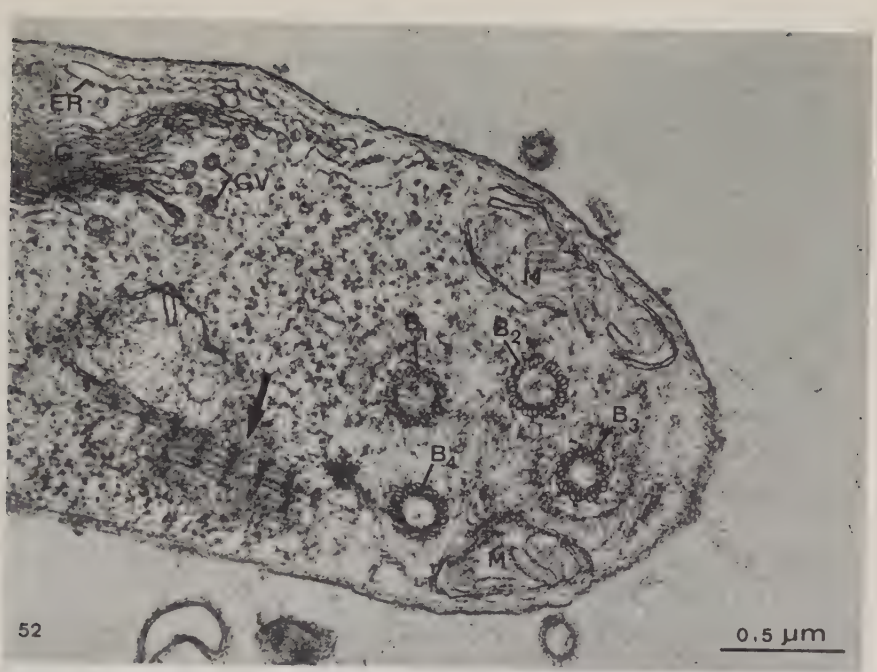

F2
SMT
V
1 µm

51

Abb. 52 - 53 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

52. Zu Beginn einer Zellteilung wird zunächst ein neues Geißelpaar gebildet. Der Schnitt durch das Körpervorderende zeigt die verdoppelten Basalapparate (B_1 - B_4) der Geißeln. Eine aus elektronendichten Bändern bestehende periodische Struktur (Pfeil) liegt in der Nähe der Basalapparate.

53. Die verdoppelten Flagellen scheinen zu Beginn der Zellteilung noch miteinander in Verbindung zu stehen (Pfeile).


ER
GV
M
B_1
B_2
B_3
B_4
M
52
0.5 µm

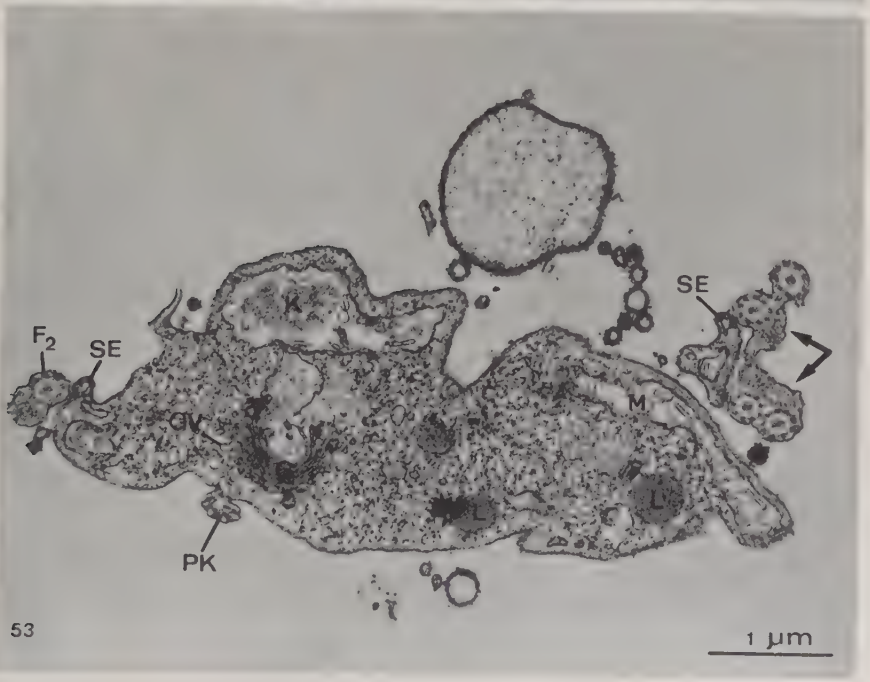
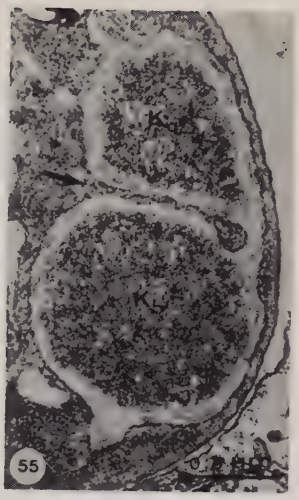

SE
F_2
SE
GV
M
PK
53
1 µm

Abb. 54 - 56 — Trypanoplasma sp. Teilungsstadien im Egeldarm. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

54, 55. Durchschnürung des Kinetoplasten. Die zum Körperinneren gelegene Seite der mitochondrialen Doppelmembran wölbt sich ins Mitochondrium vor und teilt die Kinetoplasten-DNA (Pfeile).

56. Nachdem sich die Tochterkerne (N_a, N_b) voneinander getrennt haben, schnürt sich das Zellplasma durch. Auch in dieser späten Phase der Teilung können noch Mikrotubuli der intranukleären Kernspindel (NS) beobachtet werden. Die doppelte Kernmembran bleibt während der Kernteilung bestehen und wird von der Spindel spitz vorgewölbt.

Kδ
Kp
N
V
V
54


Kδ
Kp
55

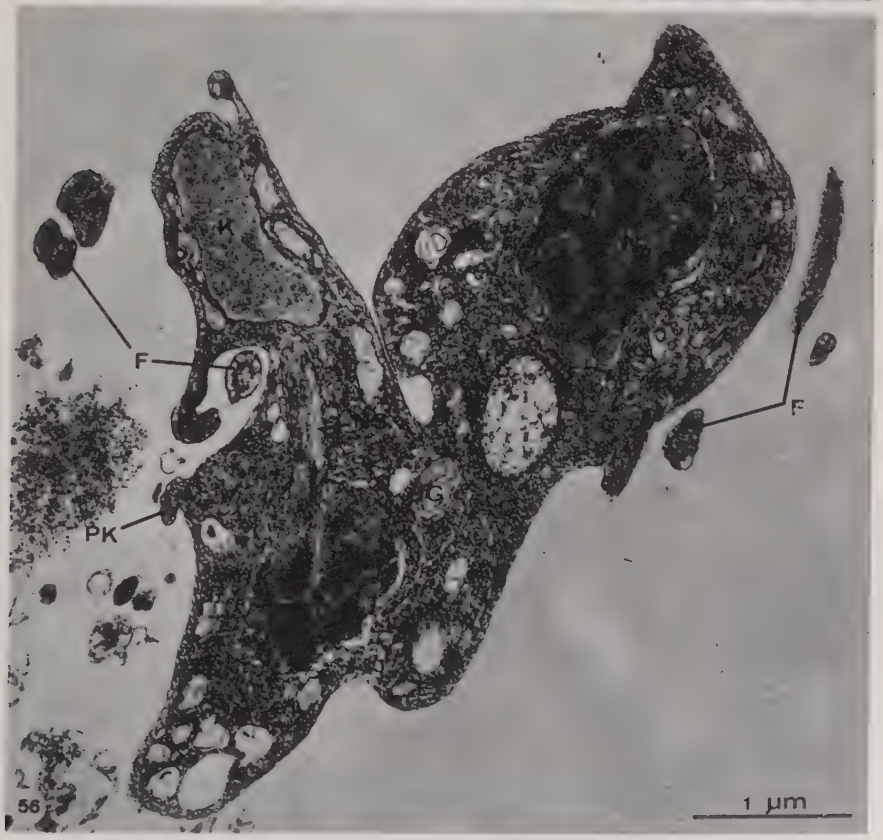
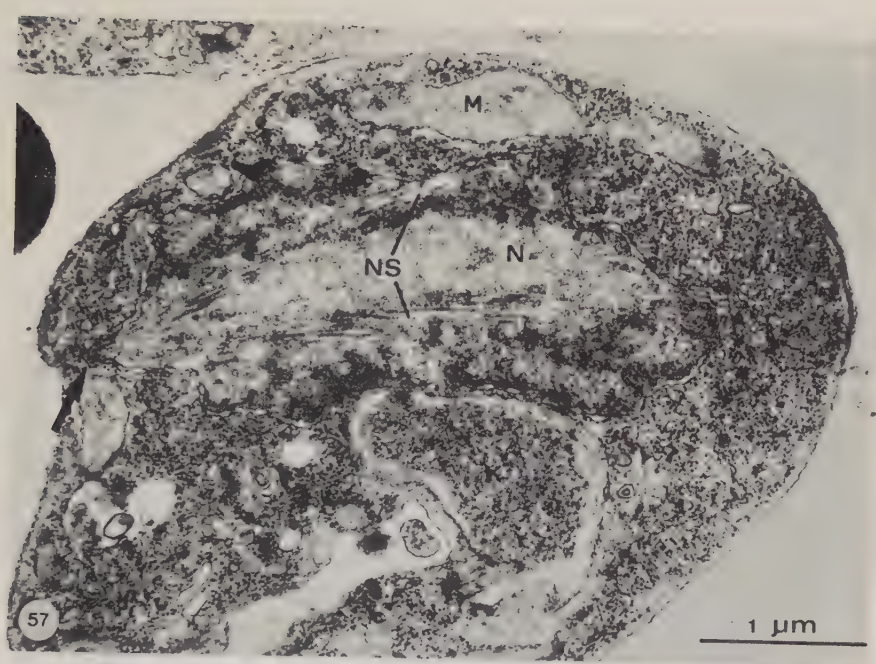

K
F
F
PK
G
56
1 µm

Abb. 57 - 58 — *Trypanoplasma sp.* Teilungsstadien im Egeldarm. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

57. Bei der Kernteilung durchzieht die Kernspindel (NS) den Zellkern (N) in seiner gesamten Länge. Dabei wird die Kernhülle spitz vorgewölbt (Pfeil).

58. Teilungsstadium vor Beginn der Plasmadurchschnürung. Der Zellkern hat sich bereits geteilt (N_a, N_b).


M
NS
N
57
1 µm

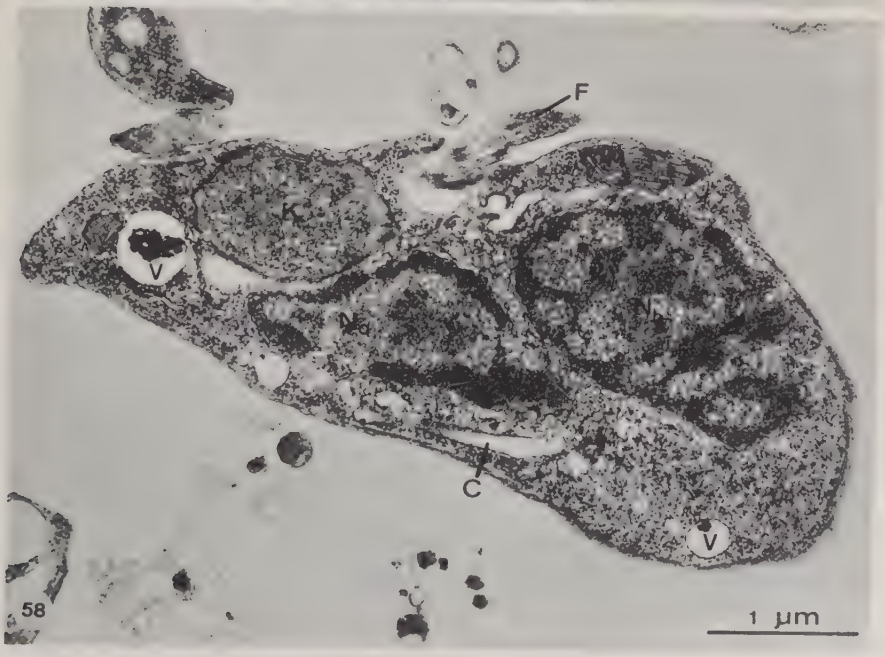

F
K
V
M
C
V
58
1 µm

Abb. 59 — Trypanoplasma sp. Teilungsstadium im Egeldarm. Elektronenmikroskopische Aufnahme.

59. Fortgeschrittenes Teilungsstadium. Die Zellorganellen haben sich verdoppelt und sind auf die beiden Tochterindividuen verteilt. Das Zellplasma wird durchgeschnürt.

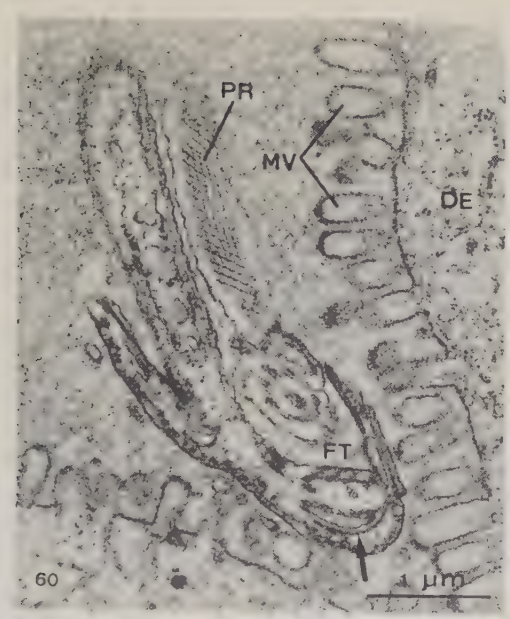
59

Abb. 60 - 62 — Trypanoplasma sp. Stadien im Egeldarm. Elektronenmikroskopische Aufnahmen.

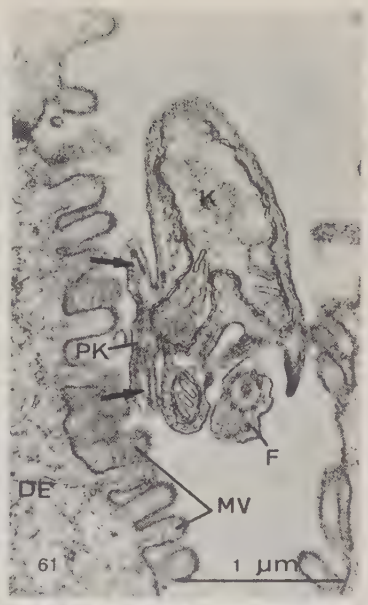
60. Parasit am Darmepithel angeheftet. Der Paraxialstrang (PR) der Geißeln besteht aus längs und schräg verlaufenden Filamenten. Am Rande der Geißeltasche befindet sich elektronendichtes Material (Pfeil).

61. Der Flagellat lagert sich mit seinem präoralen Kamm (PK) an die Mikrovilli (MV) des Vorderdarmepithels an. Der Kamm ist an den Seiten durch elektronendichtes Material verstärkt (Pfeile). Die Mikrovilli zeigen einen elektronendichten Oberflächenüberzug.

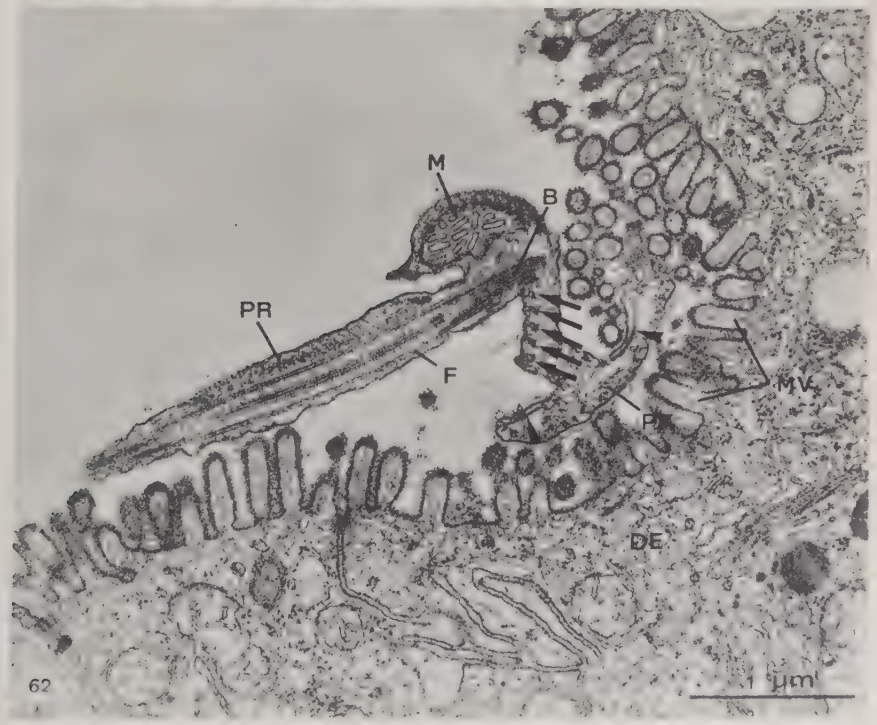
62. Der Parasit umfließt mit seinem präoralen Kamm (PK) und mit dem Körpervorderende die Mikrovilli (MV) des Vorderdarmepithels (DE). Die großen Pfeile weisen auf 5 Mikrotubuli am Rande der Geißeltasche. Der Kamm wird seitlich durch elektronenoptisch dicht erscheinendes Material verstärkt (kleine Pfeile). Die Mikrovilli besitzen einen elektronendichten Oberflächenüberzug.



60



61



62

Abb. 63 - 64 — Trypanoplasma sp. Stadien aus dem Karpfenblut. Elektronenmikroskopische Aufnahmen. Kontrastierung der Schnitte nach der PAS-Methode von Thiery (1967).

63. Ein Thiery-positives Reaktionsprodukt findet sich auf der Körperoberfläche der Flagellaten, einschließlich der Geißeln (F) und zeigt so einen "surface coat" (SC) an. Golgi-Apparat (G), Golgi-Vesikel (GV) und verschiedene kleine Vakuolen (V) sind ebenfalls Thiery-positiv.

64. Bei den Fischstadien besteht der "surface coat" aus zwei Schichten. Eine untere, nach der Thiery-Reaktion elektronendichter erscheinende Lage (kleiner Pfeil) bedeckt gleichmäßig die Zelloberfläche. Den Außenabschluß des "surface coat" bildet fädig erscheinendes Material (großer Pfeil).

V
F
GV
G
SC
63
1 µm

SC
PK
64
0.5 µm

Abb. 65 - 66 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen. Kontrastierung der Schnitte nach der PAS-Methode von Thiery (1967).

65. Schlanke Flagellatenform, 5 Stunden nach Saugbeginn der Egel. Der "surface coat" (SC) bedeckt in geringerer Stärke als bei den Fischstadien die Körperoberfläche der Parasiten. Die Hüllmembranen verschiedener großer Vakuolen (V) zeigen ebenfalls ein Thiery-positives Reaktionsprodukt.

66. Am präoralen Kamm (PK) der schlanken Flagellatenform sind exogene Vesikel (VE), die außen leicht Thiery-positiv sind, angelagert. Der präorale Kamm bildet Thiery-positive Fäden aus (Pfeil). Im Zellinnern zeigen Golgi-Apparat (G), Golgi-Vesikel (GV) und Vakuolen (V) eine positive Reaktion.

F
V
V
V
V
SC
N
E
F
F
1 µm
65
VE
PK
G
V
SC
F
1 µm
66

Abb. 67 - 68 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen. Kontrastierung der Schnitte nach der PAS-Methode von Thiery (1967)

67. Der einschichtige "surface coat" (SC) bedeckt in einer Stärke von 13 nm die Körperoberfläche einschließlich präoralem Kamm (PK) und Geißeln (F). Golgi-Apparat (G) und Golgi-Vesikel (GV) zeigen ebenfalls eine positive Thiery-Reaktion.

68. Ein Thiery-positives Reaktionsprodukt findet sich außerdem als Auflagerung der Membraninnenseite verschiedener Vakuolen (V), die in der hinteren Zellhälfte liegen und auf der Begrenzungsmembran des Zellschlundes (C).

67

68

Abb. 69 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahme. Kontrastierung des Schnittes nach der PAS-Methode von Thiery (1967).

69. Bei metazyklischen Flagellaten ist zusätzliches Thiery-positives Material der Körperoberfläche aufgelagert (Parasit rechts oben, Pfeil). Für die Karpfen nicht infektiöse Formen zeigen dagegen nur einen dünnen "surface coat" (linker Parasit).

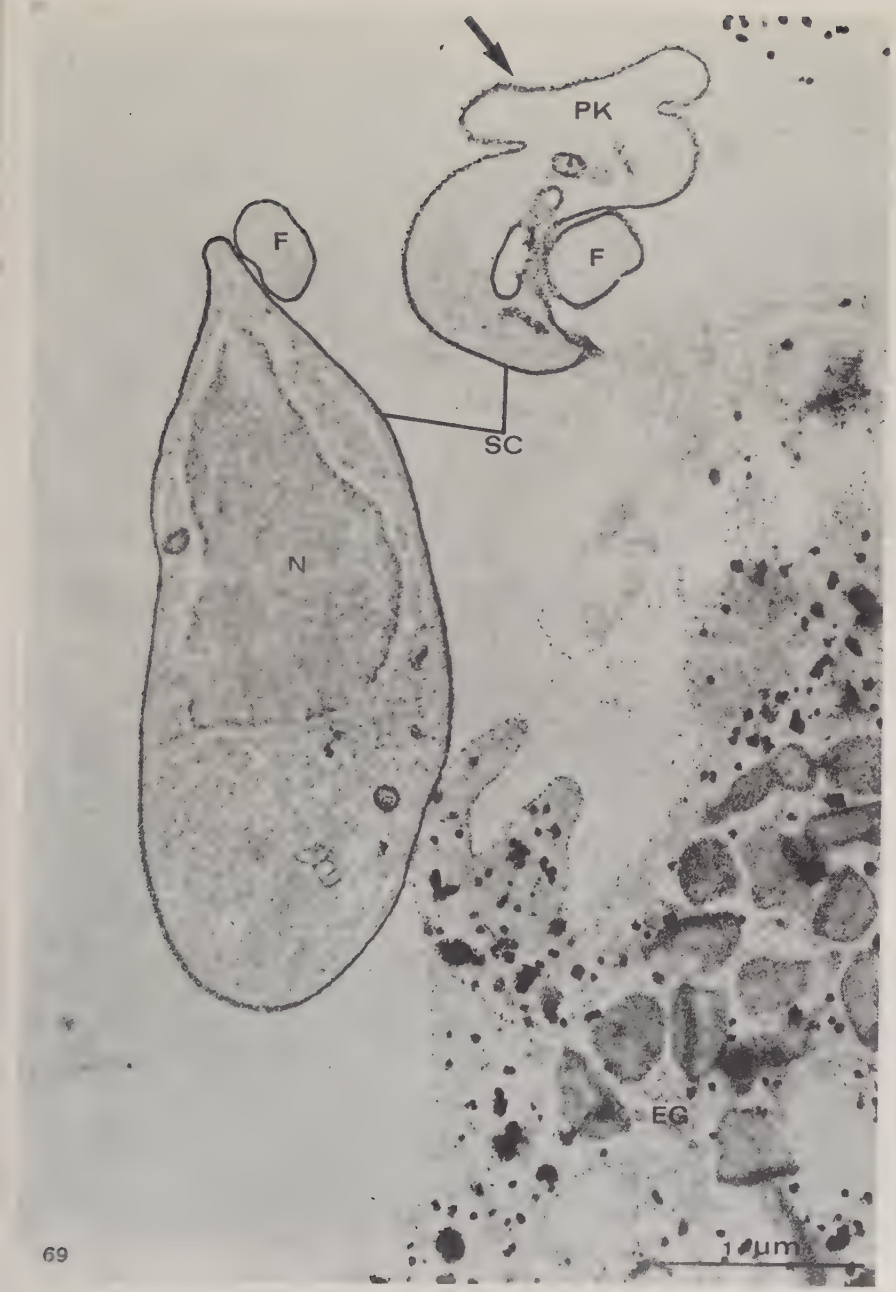

PK
F
F
SC
N
EG
1 µm

Abb. 70 — Trypanoplasma sp. Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahme. Kontrastierung des Schnittes nach der PAS-Methode von Thiery (1967).

70. Die schlanken Parasitenstadien (P) heften sich mit ihrem Vorderkörper und dem präoralen Kamm (PK) in regelrechten Nestern an das Epithel (DE) des Vorderdarmes der Egel an. Der "surface coat" dieser Stadien nimmt an den Anheftungsstellen fädigen Kontakt mit dem Darmepithel auf (Pfeile rechts). Thiery-positive Fäden finden sich auch zwischen Geißeln und Körperoberfläche der Parasiten. Der Mikrovillisaum der Epithelzellen zeigt große Unterbrechungen.

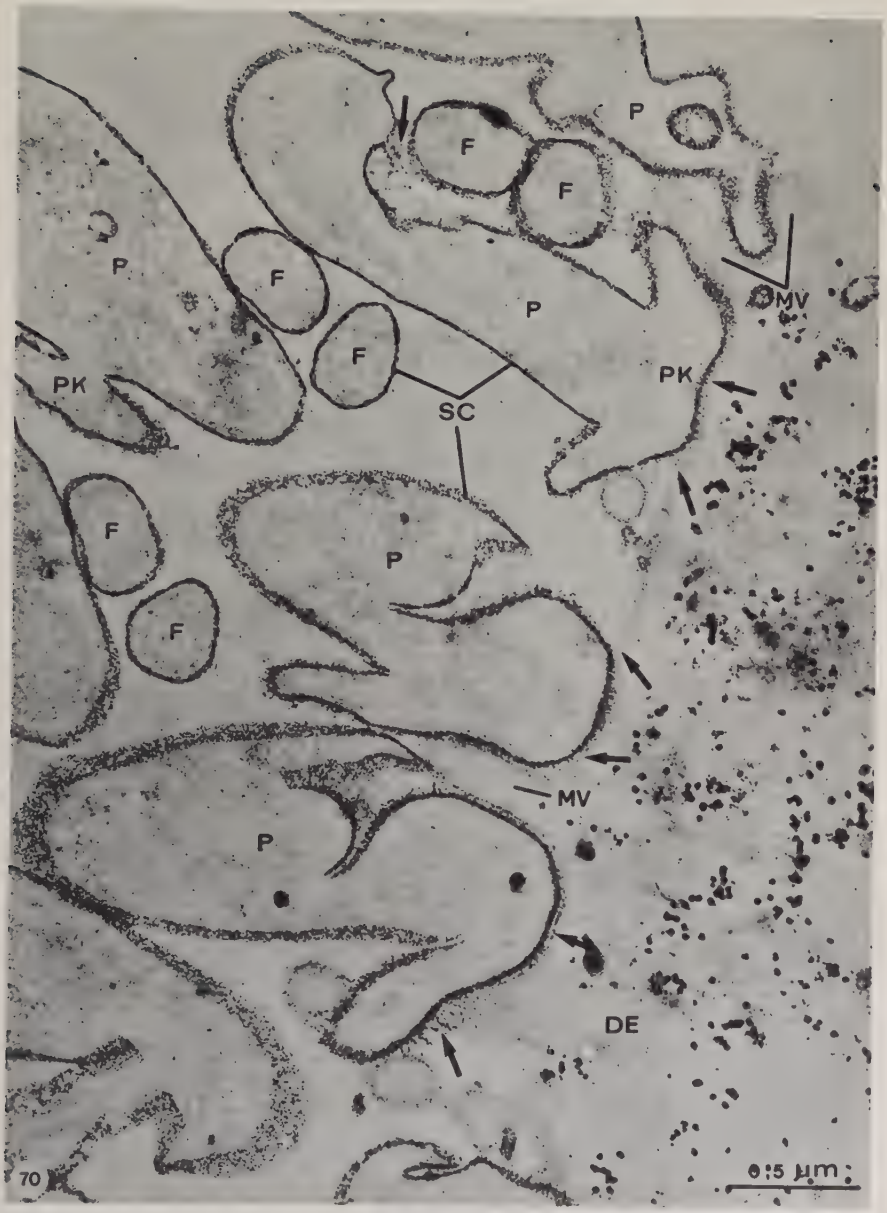

P
F
F
P
MV
P
F
F
PK
SC
PK
F
P
F
MV
P
DE
70
0·5 µm

Abb. 71 - 72 — *Trypanoplasma sp.* Egelstadien. Elektronenmikroskopische Aufnahmen. Kontrastierung der Schnitte nach der PAS-Methode von Thiery (1967).

71. Die am Vorderdarmepitel angehefteten Flagellatenstadien umfließen mit ihrem Vorderkörper einzelne Mikrovilli (MV). Zur Epitheloberfläche werden Thiery-positive Fäden ausgebildet (Pfeile).

72. Die Thiery-positiven Fäden (Pfeile), die zum Darmepithel und zu benachbarten Flagellaten führen, werden bis zu 120 nm lang.

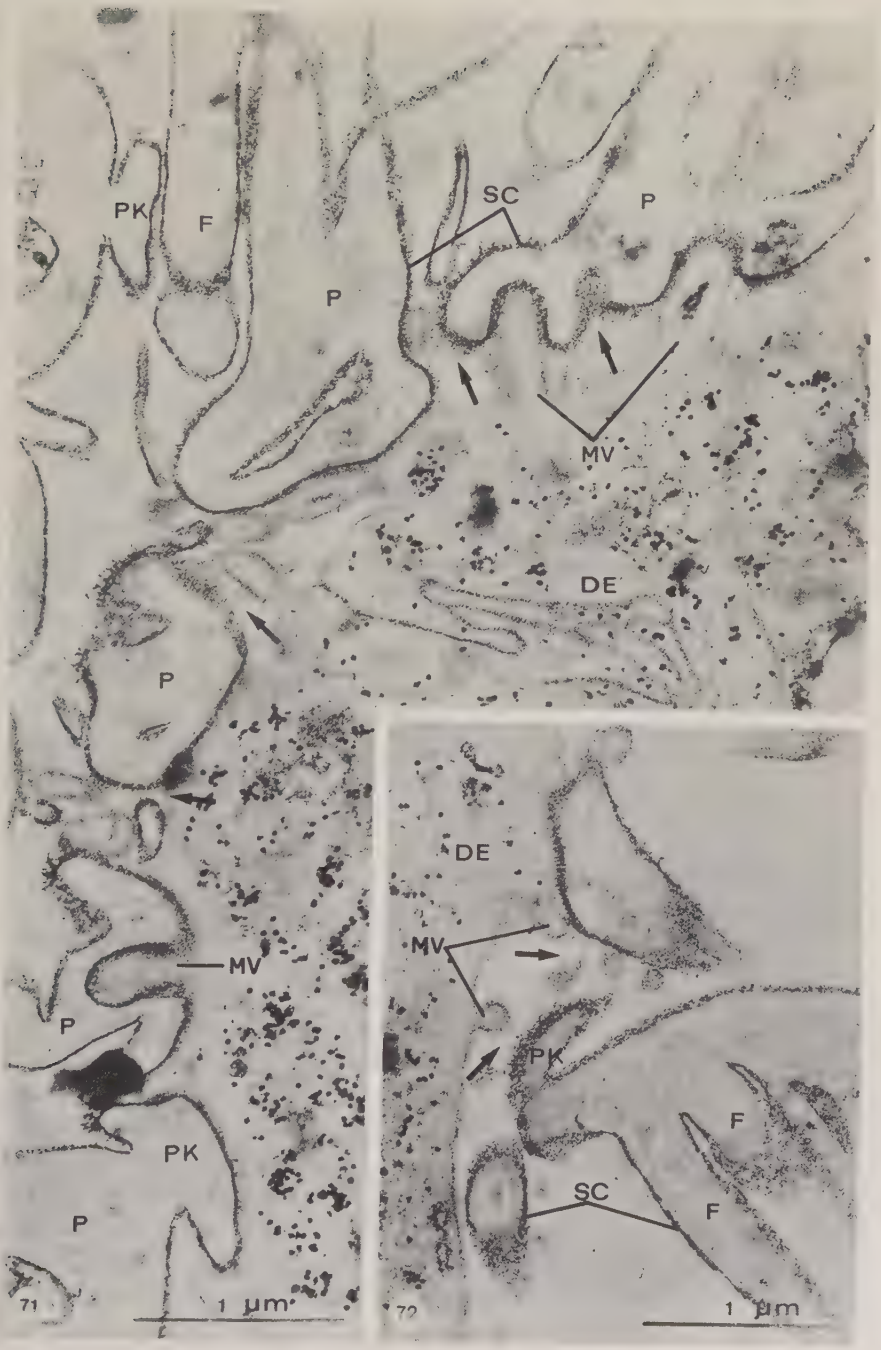

PK
F
P
SC
P
MV
DE
P
MV
P
PK
P
1 µm
71
DE
MV
PK
F
SC
F
1 µm
72

Abb. 73 — Der Lebenszyklus von Trypanoplasma sp. im Karpfen und im Fischegel.

73. Metazyklische Stadien von Trypanoplasma sp. (1), die sich hinsichtlich ihres "surface coat" von den übrigen Egelstadien unterscheiden, gelangen während der Blutmahlzeit der Fischegel durch den Rüssel in den neuen Wirt. Hier sind sie zunächst als schlanke Parasiten (2) mit langem freien Geißelende der Schleppgeißel im Herzblut der Karpfen nachzuweisen. Mit Andauern der Patenz oder wenn die Karpfen bei tiefen Wassertemperaturen gehältert werden, bilden sich über Zwischenstufen (3) vermehrt dicke Fischstadien (4, 5) mit kurzem freien Schleppgeißelende. Hieraus können sich, z. B. durch Temperaturerhöhung, erneut schlanke Formen entwickeln.

Werden Fischstadien während einer Blutmahlzeit vom Egel aufgenommen (6), teilen sie sich, und es entstehen kleine gedrungene Formen (7). Durch weitere Teilungen gehen hieraus schlanke Flagellaten (8) hervor, die sich mit ihrem Vorderende im Vorderdarm der Fischegel an das Epithel anheften und hier angeheftet sehr lange nachzuweisen sind.

Diejenigen Trypanoplasmen, die während einer erneuten Blutmahlzeit der Egel nicht in den Fisch gelangen, können den Egeldarm rekolonisieren. Dazu lösen sie sich vom Darmepithel, kugeln sich ab (8.1, 8.2) und teilen sich (8.3). Über kleine gedrungene Stadien (8.4) entwickeln sich dann wiederum schlanke Egelformen (8).

Lebenszyklus von Trypanoplasma sp.

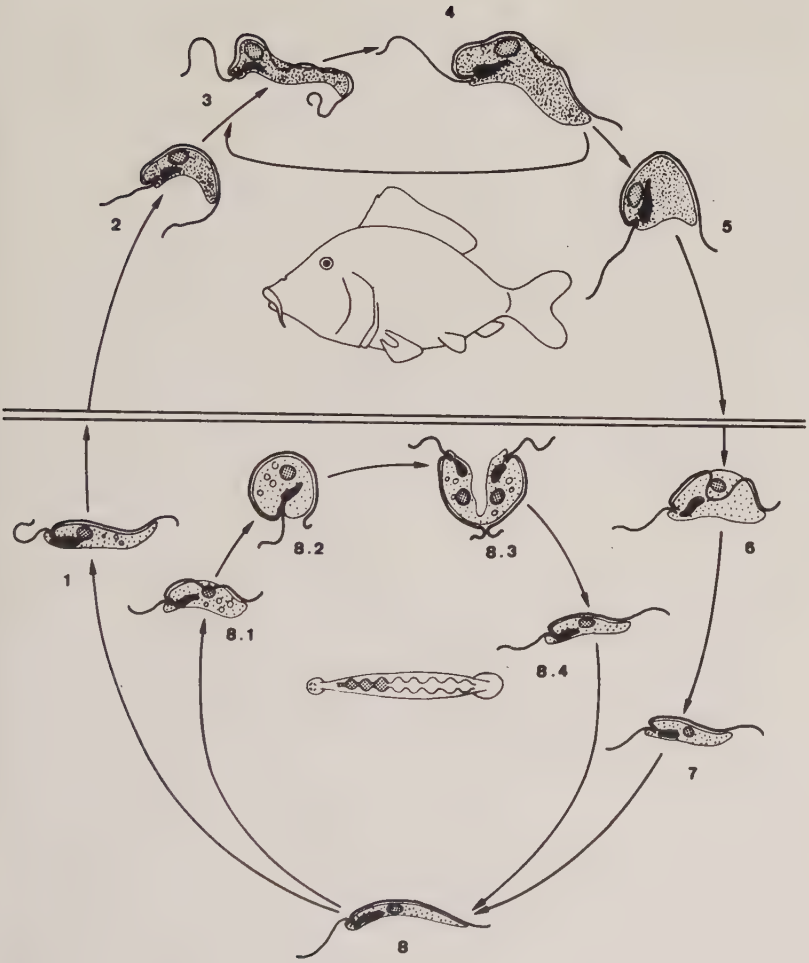


Abb. 73

Danksagung

Herrn Professor Dr. H. Mehlhorn möchte ich für all die Anregungen und kritischen Ratschläge, die er mir zu der vorliegenden Arbeit gab, danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Professor Dr. W. Peters, der mir den Zugang zu hochwertigem Forschungsgerät ermöglichte und dessen außerordentliche Erfahrung diese Arbeit bereichert hat. Des weiteren möchte ich Frau Dr. M. Niehaus und Herrn Dr. V. Walldorf danken, deren kollegialer Rat sehr hilfreich war. Für die Einführung in die Technik der Elektronenmikroskopie und für ihre Hilfsbereitschaft bin ich besonders Frau L. Langenstraßen zu Dank verpflichtet.

Für die Hilfe bei der Beschaffung der Versuchstiere und Hinweise bezüglich ihrer Hälterung möchte ich Herrn Dr. Lehmann (Landesanstalt für Fischerei NW in Albaum), Herrn Fischmeister Proske (Dülmen), Herrn Landwirt Drenker (Mettmann) und Herrn vom Baal (2. Vorsitzender des Angelvereins "Petri Heil", Hilden) meinen Dank aussprechen.

Ohne die vielen Aufmunterungen meiner Frau Heidrun in schwierigen Phasen hätte diese Arbeit nicht zustande kommen können. Ihr gilt mein größter Dank.

Lebenslauf des Karl Milde

- Geboren am 27.03.1951 in Gelsenkirchen-Horst als Sohn des Karl-Gerhard Milde und seiner Ehefrau Helene, geborene Kocyan.

- Ostern 1957 Einschulung in die Brehmschule in Düsseldorf und zum Winterhalbjahr 1958/59 Umschulung auf die Adolf-Klarenbach-Schule in Düsseldorf-Holthausen.

- 1961 Wechsel auf das Schloßgymnasium Benrath.

- Zum Schuljahr 1967/68 Wechsel auf das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium an der Koblenzer Straße in Düsseldorf-Garath.

- Hier das Abitur am 11.06.1969 abgelegt.

- Zum Wintersemester 1969/70 Aufnahme des Chemiestudiums an der Universität Düsseldorf.

- Vom 01.07.1970 bis zum 15.10.1971 Unterbrechung des Studiums zwecks Ableistung des Grundwehrdienstes.

- Zum Wintersemester 1971/72 Wiederaufnahme des Studiums an der Universität Düsseldorf.

- Zum Wintersemester 1973/74 Studienfachwechsel zur Fachrichtung Biologie.

- Vordiplom in Biologie erlangt am 20.10.1975.

- Verehelichung mit Frau Heidrun, geborene Brinkwerth, am 18.01.1977.

- Diplom in Biologie erlangt am 21.11.1978 und seitdem Arbeit an meiner Dissertation.

- Geburt meines Sohnes Per-Michael am 13.02.1981.